SEROLOGISCHE STUDIEN

AUF DEM GEBIETE DER

EXPERIMENTELLEN THERAPIE.

Habilitationsschrift

zur

Erlangung der Venia docendi

der

hohen medizinischen Fakultät der Kgl. bayer. Friedrich-Alexanders-Universität zu Erlangen

vorgelegt von

Dr. Wolfgang Weichardt,
I. Assistent des Hygien. bakteriol. Institutes der Universität.

Mit 98 Kurven.

STUTTGART.
DRUCK DER UNION DEUTSCHE VERLAGSGESELLSCHAFT.
1905.

57

SEROLOGISCHE STUDIEN

AUF DEM GEBIETE DER

EXPERIMENTELLEN THERAPIE.

Habilitationsschrift

zur

Erlangung der Venia docendi

der

hohen medizinischen Fakultät der Kgl. bayer. Friedrich-Alexanders-Universität zu Erlangen

vorgelegt von

Dr. Wolfgang Weichardt,
I. Assistent des Hygien. bakteriol. Institutes der Universität.

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

Mit 98 Kurven.

STUTTGART.
DRUCK DER UNION DEUTSCHE VERLAGSGESELLSCHAFT.
1905.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41542702_0130

Nach den überraschenden Entdeckungen der experimentellen Therapeuten auf bakteriellem Gebiete konnte es nicht ausbleiben, daß sich die serologische Forschung mehr und mehr auch dem Gebiete des normalen Organismus zuwandte und hierbei die gewonnenen Erfahrungen erweiterte und vertiefte.

So war es bekanntlich bald möglich, noch weit größere Klarheit in die Gesetze der Bildung und Bindung der Antikörper durch die so fein abstufbare Auflösung der Erythrocyten mittels der Hämolysine zu bringen. Ehrlichs (17) einschlägige Forschungen darüber sind als grundlegend anzusehen und wahrhaft klassische Bausteine der Immunitätslehre.

Nach den Erythrocyten wandte man sich vor allem den Spermatozoën wegen ihrer charakteristischen, so leicht beeinflußbaren Geißelbewegung zu, an der man die Toxinwirkung und ihre Aufhebung leicht verfolgen konnte. Ja es ließen sich bei den Spermatoxinstudien Versuchsanordnungen treffen, die sogar über Verhältnisse Licht verbreiteten, welche mittels der Hämolysinforschung kaum so sinnfällig hätten aufgeklärt werden können.

Spermatoxinstudien.

Ich beginne mit diesen Studien, weil sie im stande sind die im Nachfolgenden dargelegten Verhältnisse, wie sie sich nach Einspritzung anderer Zellen und selbst ungeformter Eiweiße im Körper abspielen, vorzüglich zu beleuchten.

Die im Jahre 1901 im Metschnikoffschen Laboratorium am Institut Pasteur in Paris von mir ausgeführten Untersuchungen (57) hatten mehr ein theoretisches Interesse, sind aber in der Folge maßgebend für die Erklärung praktisch wichtiger Vorgänge geworden:

Werden einem Meerschweinchen Spermatozoën eines Kaninchens wiederholt injiziert, so gewinnt das Meerschweinchenserum die Eigenschaft Kaninchenspermatozoën im Verlaufe von 3 Minuten vollständig bewegungslos zu machen. Es enthält Spermatoxine, die nach der Ehrlichschen Nomenklatur zu den Rezeptoren dritter Ordnung zu rechnen sind, d. h. sie bestehen aus dem hitzebeständigen Zwischenkörper (Amboeptor) und dem labilen Komplemente.

Wenn man die Komplemente durch Erhitzung auf 56° wegschafft, so vermag das Meerschweinchenblut den Spermatozoën sichtlich nichts mehr anzuhaben. Man kann aber sofort wieder Wirkung in die Erscheinung treten lassen, wenn man frisches Serum beliebiger anderer Meerschweinchen zusetzt, und zwar im Verhältnis 1 : 15.

Die Reaktivierung gelang mit frischem Serum unbehandelter Meerschweinchen in jedem Falle. Sie gelang dagegen mit frischem Serum anderer Tierspezies nicht immer.

Beispielsweise hatten von 17 Kaninchenseren nur 5 eine solche Fähigkeit, bei den 6 anderen war zwar auch ein Erfolg zu sehen, er trat aber erst in 10—20 Minuten ein. Bei 4 folgenden dauerte der Eintritt 1—2 Stunden und 2 hatten überhaupt keine Einwirkung.

Diesen letzteren fehlten also jegliche passende Komplemente.

Auch das Serum nicht jedes Menschen hat die Fähigkeit der Reaktivierung.

Ja es war auffallend, daß auch derselbe Mensch nicht zu jeder Zeit die passenden Komplemente zur Reaktivierung eines solchen Meerschweinchenserums besitzt.

Beispielsweise reaktivierte Serum einer Versuchsperson heute das inaktivierte Serum, und wenn man nach 8 Wochen wieder untersuchte, so fehlte jedes passende Komplement.

Studien über Ambozeptoren und Antiambozeptoren.

Behandelte ich ein Tier wiederholt mit Spermatoxinen, also Seren, welche durch wiederholte Injektion von Kaninchenhoden bei Meerschweinchen gewonnen worden waren, so erhielt ich ein Antispermatoxin, welches die Wirkungen des Spermatoxins aufhob.

Dies ist in unserem Falle leicht möglich, weil das Spermatoxin auf Körperzellen (was ja die Spermatozoën sind) wirkt, und dadurch eine Antikörperbildung hervorruft.[1])

Das Antispermatoxin besteht, wie ich nachgewiesen habe, aus Antiambozeptor und Antikomplement.

Nun kann ein solcher Antiambozeptor, der auf den Reiz eines an die Spermatozoënrezeptoren angreifenden Ambozeptors entsteht, nach der strengsten Auffassung der Seitenkettentherorie nur entstehen, wenn Spermazellen oder deren Vorstufen in dem Organismus

[1]) Einspritzung von Bakterien-agglutinierenden Seris kann bekanntlich eine Antikörperbildung nicht auslösen, weil sich dieses Serum nur gegen Bakterien, nicht gegen Körperzellen richtet. Es wäre das eine gewisse Bestätigung der Ehrlichschen Seitenkettentheorie. Allerdings haben Pfeiffer und seine Schüler gegen bakterizide Substanzen Antikörper entstehen sehen.

eines Individuums überhaupt vorhanden sind. Da wir nun aber Antiambozeptoren für Kaninchenspermatoxine auch bei kastrierten und weiblichen Kaninchen erzeugen konnten, so mußte die Ehrlichsche Lehre von der Bildung der Antikörper im weitesten Sinne aufgefaßt werden; nur dadurch war es möglich, obige Tatsache mit den bisherigen Anschauungen in Einklang zu bringen.

Diese scheinbar rein theoretische Feststellung, nämlich, daß die verschiedensten Zellen des Körpers auf gewisse Reize dieselben spezifischen Antikörper bilden können, ist für die experimentell-therapeutische Praxis entschieden von Wichtigkeit: Die so allgemein und reichlich im Organismus vorhandene Gelegenheit der Antikörperbildung vermittelt uns das Verständnis für das Zustandekommen des oft überraschenden, überaus massenhaften Auftretens von Antikörpern aus verschiedenen Teilen des Organismus bei der Krisis, wenn nach der Latenzzeit des Toxins die Antikörperbildung einsetzt.

Nomenklatur.

Cytolysine sind Substanzen, die Zellen auflösen, und zwar solche Zellen, auf deren wiederholte Injektion im Tiere sie entstanden sind.

Dies stimmt z. B. bei den Hämolysinen und bei einigen Bakteriolysinen, so bei den Lysinen gegen Choleravibrionen.

Den Ausdruck Cytolysin hat man vielfach als identisch mit dem Ausdruck Cytotoxin gebraucht.

Letzterer wurde von Metschnikoff für alle die Substanzen eingeführt, die bei wiederholter Einspritzung von Zellen überhaupt und speziell von Spermatozoën im Körper entstehen.

Diesen Namen habe auch ich bisher beibehalten, glaube aber, daß er zu Verwechslungen Anlaß geben kann, weil wir ja unter dem Begriff Toxin entweder das Stoffwechselprodukt eines Mikroorganismus oder sein Endotoxin verstehen, welches nach seiner Auflösung frei wird.

Für die Folge möchte ich vorschlagen, an Stelle des Wortes Spermatoxin den Ausdruck spermatozide Substanz zu wählen, wie z. B. für analoge Stoffe der Ausdruck bakterizide Substanzen gebräuchlich ist, ohne daß damit über die Art der Zellschädigung etwas ausgesprochen sein soll. Zu sehen ist ja diese Zellschädigung mit Hilfe des Mikroskops nicht immer. Mikroorganismen, die nach Einwirkung bakterizider Substanzen soweit geschädigt sind, daß ihr Wachstum auf künstlichem Nährboden unterbleibt, können mikroskopisch noch vollkommen intakt erscheinen (s. übrigens S. 11).

Immunitätsstudien über geformte und ungeformte Eiweiße.

Die Antispermatoxinstudien hatten die auf rein bakteriellem Gebiete gewonnenen Erfahrungen bestätigt und erweitert.

Schon bei der ersten Mitteilung der im Vorstehenden kurz beschriebenen Resultate (63) habe ich die Anschauung ausgesprochen, daß man diese Erfahrungen noch verallgemeinern und sie auch für die Aufstellung anderer Fragen verwerten müsse, so für die bis dahin noch dunkeln Vorgänge bei der Immunisierung mit anderen wohl charakterisierten Körperzellen und Zellprodukten und überhaupt zur biologischen Durchforschung von Körpereiweißen.

Die gewonnenen Erfahrungen verwertete ich dann bei weiteren Untersuchungen, die ich mit Plazentarelementen anstellte. Diese Arbeiten über die Ätiologie der Eklampsie, die ich am Schmorlschen pathologisch-anatomischen Institute zu Dresden ausgeführt hatte (63, 60), haben wiederholt Anklang gefunden, und es wurden die darin niedergelegten Anschauungen von anderen Autoren teilweise angenommen, teilweise regten sie interessante Kontroversen an. Die Arbeiten von Liepmann (27, 28, 29), Opitz (39), Wormser (72) und die A. Wolffs (70, 71) seien hier erwähnt.

Durch wiederholte Injektionen verriebener Plazentarelemente gelang es mir zuerst, im Serum von Kaninchen Hydrosole zu erzeugen, die im weitgehendsten Maße Plazentarverreibungen beeinflussen; und zwar zunächst in Form von Hydrogelbildung in Gestalt von Präzipitationen (58, 63, 59), sodann aber durch Infreiheitsetzen von Atomgruppen mit ungesättigten Affinitäten, die als Endotoxine in Erscheinung traten (58). Am Schmorlschen pathologisch-anatomischen Institute konnte ich durch Einspritzung derartiger in vitro dargestellter Endotoxine zeigen, daß die normalen Schutzeinrichtungen mancher Kaninchen gegen diese Endotoxinwirkungen nicht ausreichend sind, daß Thromben und als Folge davon die pathologisch-anatomisch so charakteristischen Lebernekrosen entstehen.

Schon bei diesen Studien wurde es mir klar, daß die Endotoxine, wie die echten Toxine wasserlöslich sind, wenn sie vorher in komplementhaltigem Serum gebildet wurden.

Es ist mir gelungen, die betreffenden Endotoxine in wasserlöslicher, abfiltrierbarer Form zu gewinnen, wenn ich den Eiweißpartikeln ganz frisches spezifisches Kaninchenserum zusetzte, gewonnen durch wiederholte Einspritzung von geformten Eiweißen (58).

Diese Wasserlöslichkeit der Endotoxine zu betonen, halte ich deshalb für wichtig, weil man früher vielfach nur die Diphtherie- und

ähnliche Toxine als wasserlöslich gelten lassen wollte und zwar im Gegensatze zu den Endotoxinen.

Vorhandene oder mangelnde Wasserlöslichkeit darf meines Erachtens nicht mehr als Unterscheidungsmerkmal zwischen diesen beiden Arten von Toxinen herangezogen werden; es ist vielmehr die verschiedene Art ihrer Bildung, welche sie kennzeichnet.

Die reichliche Endotoxinbildung, wie sie bei der Lösung der geformten Eiweiße im Tierkörper statthat, läßt eine Antiendotoxinbildung meist überhaupt nicht in Erscheinung treten, denn wenn auch Antiendotoxine gebildet werden, so ist ihre Menge in den meisten Fällen doch zu gering, als daß sie eine absättigende Wirkung äußern könnten (siehe z. B. die Ausführungen über das Heufieberserum).

Frühere Untersucher haben diese quantitativen Verhältnisse übersehen und haben sicher unrecht gehabt, wenn sie meinten, daß von einer Antiendotoxinbildung überhaupt nicht gesprochen werden kann.

Heufiebertoxinstudien.

Meine Beobachtungen an den cytolytischen Vorgängen, wie sie nach Einspritzung von Placentarelementen auftreten, sind in geradezu überraschender Weise beim Studium der Heufiebererkrankung bestätigt worden.

Ihre Ursache beruht nicht, wie manche Untersucher früher annahmen und experimentell zu beweisen suchten, in der Wirkung von Bakterien oder ähnlicher Mikroorganismen, sondern die Erkrankung ist durch Einatmung von Gramineenpollen bedingt, wie schon im Anfang des vorigen Jahrhunderts vor allen Elliotson, Blackley (4) und andere englische Autoren bewiesen haben, und wie jetzt durch die spezifische Antiserumwirkung sicher festgestellt ist.

Auf Grund meiner kurz vorher angestellten Injektionsversuche mit Syncytialzellen lag mir im Frühjahr 1902 der Gedanke nahe, durch Injektion solcher Pollen im Tierkörper ein spezifisches, pollenlösendes Serum zu erzeugen. Seine Richtigkeit fand bald ihre Bestätigung, indem es gelang, nach meiner Angabe ein wirksames Heufieberserum herzustellen, während man bis dahin seit Jahren speziell am Hamburger hygienischen Institute eifrig aber vergeblich bemüht gewesen war, Mikroorganismen als Erreger zu finden.

Das durch Polleninjektion gewonnene Heufieberserum hat, ähnlich wie alle durch Injektion von Eiweißpartikeln, lebenden Zellen, Bakterienleibern etc. gewonnenen Sera zweierlei Eigenschaften:

1. Es wirkt, solange es frisch ist, cytolytisch auf die geformten oder ungeformten Eiweiße, unter deren Wirkung es entstanden ist. Bei dieser Cytolyse werden die Endotoxine der Eiweiße frei.

2. Es wirkt antiendotoxisch, d. h. spezifisch auf jene frei gewordenen Endotoxine. Diese Eigenschaft tritt aber erst nach Wegschaffung der Komplemente zu Tage, wenn keine Cytolyse mehr stattfindet, wenn also nicht soviel Endotoxine frei werden, daß die wenigen Antiendotoxine von ihnen verbraucht werden.

Aus diesen Eigenschaften des Serums lassen sich nun die Erscheinungen, die es bei Tieren oder Menschen hervorruft, erklären:

Tiere werden bei wiederholten intravenösen Injektionen von Pollen immer empfindlicher, selbst wenn sie jedesmal nur verhältnismäßig niedere Gaben von Zellbestandteilen erhalten; denn nach der Einspritzung steigert sich die Bildung von Cytolysinen, welche die Endotoxine der neueingespritzten Zellbestandteile frei machen.

Menschen, denen ein solches cytolytisches Serum der behandelten Tiere, z. B. das Heufieberserum, eingespritzt wird, erlangen damit nur einen unvollkommenen Schutz. Das Serum wirkt nur deutlich bei lokaler Anwendung, nicht bei subkutaner, weil dann der geringe Antiendotoxingehalt sich im Körper verteilt und so durch übermäßige Verdünnung so gut wie unwirksam wird.

Bei örtlicher Anwendung eignet sich das Heufieberserum vortrefflich zur Beantwortung wichtiger Fragen über die Cytolyse und ihre Wirkung im allgemeinen, zumal da hier in ungefährlicher Weise Versuche am Menschen gemacht werden können, so z. B. folgender:

In den Bindehautsack eines für Heufieber empfindlichen Menschen bringe man wirksame Pollen und gleichzeitig ganz frisches Heufieberserum. Es tritt Rötung, Schwellung und Brennen an der Bindehaut auf. Das Serum hat also nicht geschützt.

In das andere Auge desselben Individuums bringe man ebenfalls wirksame Pollen, dazu aber Serum, welches durch halbstündiges Erhitzen auf 60° oder durch längeres Lagern seiner Komplemente beraubt ist. Man wird an diesem Auge keine Reaktion wahrnehmen. Das inaktivierte Serum hat demnach deutlich eine schützende Wirkung ausgeübt.

Der Versuch ist folgendermaßen zu deuten:

Das frische Serum wirkt cytolytisch, es macht bei seiner Wirkung auf die Pollen Endotoxine frei und zwar mehr, als das Heufieberserum abzusättigen vermag.

Das inaktivierte Serum ermangelt der cytolytischen Wirkung, weil es durch Erhitzen oder Aufbewahren seine wirksamen Komplemente eingebüßt hat.

In geringem Maße wird eine Cytolyse durch den Umstand hervorgerufen, daß der Behandelte schon normalerweise in seinen Körpersäften einige Ambozeptoren und Komplemente mit pollenlösender Eigenschaft

besitzt. Er macht dadurch Pollentoxin frei, aber die Mengen sind doch so gering, daß sie von dem eingeträufelten Heufieberserum noch abgesättigt werden können, vorausgesetzt, daß dasselbe inaktiviert ist.

Es kommen aber auch Fälle vor, bei denen die Einbringung von Pollen und inaktiviertem Serum nicht reaktionslos verläuft. Solche Fälle sind dadurch zu erklären, daß das betreffende Individuum in seinen Körpersäften zufällig Komplemente besitzt, die auf die Ambozeptoren des inaktivierten Serums passen und es wieder aktivieren. Die Folge ist eine Entzündung der Bindehaut wie beim Heufieberanfall.

Eine dritte Möglichkeit besteht in folgendem:

Zur Heufieberzeit bedienen sich empfängliche Individuen anfänglich mit Nutzen des Heufieberserums [1]), plötzlich versagt es, ja noch mehr, die Kranken klagen über beträchtliche Verschlimmerung ihres Zustandes.

Es sind bei diesen Patienten nach längerer Behandlung mit ambozeptorenreichen Seren passende Komplemente entstanden und sie verhalten sich dann so, wie Individuen, deren Verhalten oben beschrieben worden ist. Sie komplettieren jetzt das ambozeptorenreiche inaktivierte Heufieberserum und lösen Pollen, die zur Zeit der Gräserblüte in ihr Auge gelangt sind, auf. Dadurch wird eine so große Menge von Endotoxin frei, daß unter Umständen schwere Entzündungen auftreten.

Daß dasselbe Individuum zeitweise über gewisse Komplemente verfügt, zu anderer Zeit dagegen nicht, habe ich zuerst bei den Spermatoxinstudien bewiesen. Diese Tatsache bestätigt sich hier wieder.

Durch das Vorhandensein von Ambozeptoren und zwar solcher mit freier haptophorer Gruppe wird nach der herrschenden Vorstellung auf die Körperzellen ein Reiz ausgeübt, der zur Erzeugung von Anti-Ambozeptoren Veranlassung gibt, so daß nun die Wirkung der Ambozeptoren aufgehoben wird. Da bei Fehlen passender Komplemente auch die komplementophile Gruppe der Zwischenkörper frei ist, und das ist im Anfang der Behandlung der unter 3. angeführten Individuen der Fall, so wird auch diese Gruppe — so kann man sich vorstellen — einen anderen Reiz auf die Körperzellen ausüben, dem zufolge nun auch das passende Komplement geliefert wird [2]).

Mit dieser Annahme wäre die Tatsache erklärt, daß die unter 3. geschilderten Individuen, denen bisher die Komplemente fehlten, nach längerer Behandlung mit ambozeptorenreichen Seris die passenden verdauenden Komplemente liefern.

---

[1]) Es ist hier das durch Polleninjektion aus dem Tierkörper erhaltene Serum, das sogenannte Pollantin des Handels gemeint.

[2]) Voraussetzung ist allerdings starke Affinität von neu gebildetem Komplement, Ambozeptor und Eiweiß.

Für einen Heufieberkranken bedeutet eine solche Komplementlieferung wie geschildert einen schädigenden Vorgang [1]).

Daß das nicht bloß theoretische Überlegung ist, sondern sich in der Tat so verhält, beweisen die praktischen Erfahrungen des letzten Jahres, die in der Statistik über ein gut beobachtetes Material der Senatorschen Klinik (69/71), sowie in der des deutschen Heufieberbundes (35) niedergelegt worden sind.

Speziell in der letzteren finden sich unter 188 Behandelten 22 Kranke, bei denen der Gebrauch des Pollantins eine direkte Verschlimmerung ihres Leidens veranlaßt hat.

Bakterienendotoxinstudien.

Bekanntlich bilden sich bei Behandlung von Tieren mit gewissen Bakterien Antikörper, welche im Gegensatz zu den bekannten Eigenschaften des Diphtherie- und Tetanusantitoxins andere, ganz besonders charakteristische Eigentümlichkeiten zeigen:

Diese Antikörper lösen Bakterienleiber der betreffenden Art auf, machen das in ihnen enthaltene Endotoxin frei und hemmen die Entwicklung der betreffenden Bakterien auf Nährböden und im Tierkörper bis zu einem gewissen Grade.

Infolge der freigewordenen Endotoxine pflegen die Injektionstiere bei wiederholter Einführung von derartigen Bakterienleibern mehr und mehr empfindlich zu werden, ja unter Umständen plötzlich unerwartet zu Grunde zu gehen.

Wenn nun auch die Lösung der Bakterien durch bakterizide Substanzen in vitro nicht immer zu sehen ist, so muß man aus jener gesteigerten Empfindlichkeit der Tiere nach wiederholter Einverleibung von Mikroorganismen doch schließen, daß die bei den ersten Injektionen ja viel weniger giftigen Mikroorganismen durch die nach wiederholten Injektionen im Serum der Tiere vermehrten Cytolysine in dem Sinne zerfallen, daß Endotoxine frei werden.

Diesen Prozeß kann man auch in vitro nachahmen, dadurch, daß man Bakterien mit ganz frischem Serum von mehrfach mit der gleichen Bakterienart behandelten Tieren versetzt und einem unbehandelten Tiere intravenös injiziert. Auch dieses vorher unbehandelte Tier zeigt eine viel größere Empfindlichkeit gegen derartige cytolysierte Bakterien als

[1]) Bei Bakterieninfektion kann vielleicht die wiederholte Einführung von bakteriziden Seren von Nutzen sein, wenn sie im prophylaktischen Sinne geschieht. Denn dann wäre ja die Lieferung passender Komplemente von Individuen selbst für die bakterientötende Wirkung bakterizider Sera äußerst wertvoll. Bekanntlich sind diese von zweifelhaftem Werte, wenn die bei anderen Tieren erzeugten Ambozeptoren passende Komplemente nicht finden und schwer reaktiviert werden können.

gegen dieselbe Zahl von Mikroorganismen, die man nicht cytolysiert, sondern einfach von der Kultur den unbehandelten Tieren intravenös einverleibt.

Das Freiwerden von Giften setzt durchaus nicht voraus, daß man einen Zerfall von Zellen mikroskopisch wirklich sehen muß. Immerhin ist schon jetzt bei vielen Fällen ein optischer Nachweis derartiger biochemischer Veränderungen möglich, so bei den Hämolysinen und den bakteriziden Substanzen gegen Cholera- und Typhusbazillen.

Bei weiterer Verfeinerung unserer mikroskopischen Technik wird es sicher später in allen Fällen gelingen, mit dem charakteristischen biochemischen Nachweis auch den optischen zur Anschauung zu bringen.

Es sei an dieser Stelle auf die interessanten Milzbrandstudien Heims hingewiesen, die zeigen, wie mittels feiner Technik äußerst subtile Veränderungen, welche die Mikroorganismen durch den Einfluß der Körpersäfte erleiden, nachgewiesen werden können (20/21).

Ermüdungstoxinstudien.

Den besprochenen cytolytischen Seren gegenüber stehen die antitoxischen Sera.

Die Absättigung dieser einfachen wasserlöslichen Toxine ist auf das Gesetz der konstanten Verhältnisse zu beziehen. Es kommen für sie also komplizierte biologische Verhältnisse nicht in Betracht.

Diese Sera bieten daher, für den Praktiker wenigstens, bei weitem günstigere Chancen, doch auch in theoretischer Hinsicht sind sie von hohem Interesse.

Die Anhäufung gewisser Endprodukte des Stoffwechsels von ziemlich einfacher Konstitution bei der Ermüdung ist seit langem bekannt. Demgegenüber mußten die vom Verfasser supponierten hochmolekularen, den Eiweißkörpern voraussichtlich noch sehr nahestehenden eigentlichen Ermüdungstoxine durch ihre spezifische Antitoxinbildung als solche charakterisiert werden.

Diese Voraussetzungen waren ein vollkommenes Novum. Daher waren zwingende Beweise zu beschaffen, um ihre Berechtigung darzulegen.

Freilich erfordern beweiskräftige Experimente mit derartigen, den physiologischen Stoffwechselprodukten des normalen Organismus zugehörigen, äußerst labilen Stoffen um deswillen eine besondere Technik, weil ja in der Regel so schwere toxische Wirkungen, wie sie durch die Bakterientoxine ausgeübt werden, durch die beim physiologischen Stoffwechsel des Organismus auftretenden Antigene keineswegs hervorgebracht werden.

Zunächst galt es, Ermüdungstoxin aus dem Organismus hoch-

ermüdeter Warmblüter herzustellen, und zwar aus dem Blute. Das Auffinden dieses Toxins im Blute aber war, wie sich nach längeren Ermüdungstoxinstudien ergab, unmöglich; denn das Blut ist Antitoxinträger, es wird daher Ermüdungstoxin, das ins Blut gelangt, stets schnell abgesättigt.

Aber auch für die Herstellung des Ermüdungstoxins aus den Organen, besonders aus den Muskeln, genügte die bisher geübte Methode der Ermüdung im Laufapparate nicht. Man mußte vielmehr die Tiere, am besten Meerschweinchen, die bekanntlich überaus leicht reizbar sind, durch Rückwärtsziehen auf rauhem Teppich und dann durch Periostreize oder Faradisieren so schwer ermüden, daß der Ermüdungsautointoxikationstod unter Herabgehen der Körpertemperatur und Aufhören der sich mehr und mehr verlangsamenden Atmung eintrat.

Dann erst ist Ermüdungstoxin in erheblicher Menge aus den Muskeln der Tierleiche zu gewinnen.

Vorteilhafter ist es, wenn man die Meerschweinchen — wie ich einem von Herrn Geheimrat Zuntz gegebenem Rate zufolge tat — mit Leuchtgas oder Kohlenoxyd betäubt und im luftverdünnten Raume faradisiert. Man bekommt dabei mehr Ermüdungstoxin.

Die Weiterdarstellung des Ermüdungstoxins gründet sich auf dessen Eigenschaft, wasserlöslich und nicht dialysierbar zu sein.

Der unter streng aseptischen Kautelen gewonnene Muskelpreßsaft, der infolge von Ermüdungsintoxikation verendeten Meerschweinchen wird mittels Zentrifugierens von Fettbestandteilen, durch 24stündiges Dialysieren von den chemisch definierbaren dialysablen Abbauprodukten, wie Harnstoff, Kreatin, Kreatinin u. s. f. befreit, die im Dialysierschlauch zurückbleibende, eiweiß- und ermüdungstoxinhaltige Flüssigkeit filtriert und im hohen Vakuum bei einer Temperatur unter 25° zur Trockene gebracht.

Wird dieses Präparat, welches außer Ermüdungstoxin noch reichlich nichtdialysierbares Meerschweinchenmuskeleiweiß enthält, zwecks Antitoxinerzeugung Pferden wiederholt intravenös injiziert, so treten leicht die oben schon wiederholt beschriebenen übeln Erscheinungen des cytolytischen Eiweißshocks — Hinstürzen und eventuell plötzlicher Tod — ein.

Daher erweist es sich als durchaus notwendig, die Tierinjektionen mit möglichst eiweißfreien Präparaten vorzunehmen.

Bekanntlich gelingt schon die Reinigung eines relativ stabilen Bakterientoxins überaus schwierig. Deshalb darf es nicht wundernehmen, daß anfangs alle Versuche, das labile Ermüdungstoxin weiter zu reinigen, fehlschlugen. Es gelang zwar, mit Ammonsulfat und andern bekannten Fällungsmitteln, das Toxin in den Niederschlag zu bekommen,

allein die Verluste waren dabei zu groß. Desgleichen war bei den Versuchen, Eiweiße mit spezifischem Muskelpräzipitin aus dem Präparate durch Fällung zu entfernen, die quantitative Ausbeute an Ermüdungstoxin überaus gering. Dagegen gelang eine Trennung des Muskeleiweißes vom Toxin durch Zusatz von Alkali und dann von Säure oder umgekehrt bei Zusatz von Alkali zum angesäuerten Ermüdungsmuskelplasma, da beim Eintritt der Neutralisation das Muskelplasma stark ausgeflockt wird, während das Ermüdungstoxin in Lösung bleibt, wahrscheinlich infolge anderer elektrischer Ladungen, als sie die ausgeflockten Muskeleiweiße besitzen.

Durch die beschriebene fraktionierte Fällung ist eine recht erhebliche Minderung des Eiweißgehaltes der Präparate möglich; man erreicht dadurch, daß der cytolytische Shock bei der intravenösen Injektion geringer, der Toxingehalt dieser eiweißarmen Präparate dagegen noch durchaus erheblich ist, wie die Vorprüfungen an kleinen Tieren, welche vor jedesmaliger Behandlung von Pferden vorgenommen wurden, ergaben.

Die ermüdungstoxinhaltigen Präparate sind, wie schon mehrfach erwähnt, äußerst labil; selbst die braungelben Schüppchen, welche als Trockenrückstand des von Muskeleiweiß durch Ausfällen befreiten und dialysierten Ermüdungsplasmas im Vakuum zurückbleiben, zeigen nur etwas mehr Haltbarkeit als ihre Lösung, sind daher nach Verlauf von 8 Tagen zumeist nahezu atoxisch.

Nur wenn die mit dem Toxin gefüllten Glasröhren vor dem Zuschmelzen ganz vollkommen evakuiert und nachher in flüssiger Luft aufbewahrt werden, gelingt die Erhaltung der Giftigkeit.

Das Ermüdungstoxin zersetzt sich demnach so leicht wie es die Cytolysine tun, deren labilen Komplemente nach einigen Tagen vollkommen zu verschwinden pflegen.

Diese Eigenschaft erschwert natürlich das Arbeiten mit Ermüdungstoxin ganz außerordentlich. Wertbestimmungen des Toxins erfordern daher eine ganz besonders geschulte Technik und können nur für ganz kurze Zeit gelten. Ermüdet z. B. heute 1 mg des ganz frisch bereiteten ermüdungstoxinhaltigen Trockenpräparates eine Maus von 15 g Gewicht nach intraperitonealer Einspritzung deutlich unter geringer Temperaturverminderung (einfache Ermüdungsdosis: Maus E.T. I.), so sind morgen schon 1,5 mg desselben Präparates erforderlich und wirken selbst dann nicht mehr so intensiv; am dritten Tage bedarf es in der Regel schon der doppelten, am vierten Tage der fünffachen Dosis, also einer Lösung von 5 mg, die unmittelbar nach der Herstellung tödlich gewirkt haben würde.

Hat schon Ehrlich wegen der Labilität des Diphtherietoxins von

einem Testtoxin für Wertbestimmungen absehen und ein Testantitoxin als sicheres Maß wählen müssen, so war natürlich bei dem noch weit labileren Ermüdungstoxin das stabile Antitoxin als Wertmesser erst recht angezeigt.

Andere Verfahren zur Gewinnung von Ermüdungstoxin.

Größere Mengen von Ermüdungstoxin, wie sie zur Erzielung von Antitoxinen erforderlich sind, lassen sich aus ermüdeten Tieren nur auf beschwerliche und kostspielige Weise gewinnen. Nachdem ich beobachtet hatte, daß das Ermüdungstoxin in nicht vollständig evakuierten Röhren Einbuße an seiner Giftigkeit erlitt, was auf Aufnahme von Sauerstoff zurückgeführt wurde, kam ich auf den Gedanken, daß die Bildung des Toxins vielleicht mit Reduktionsvorgängen in Zusammenhang stünde und durch sie begünstigt würde.

Schon der erste in diesem Sinne ausgeführte Versuch glückte:

Dem Plasma der ermüdeten Muskeln wurde 10% schwefligsauren Natrons zugemischt, 3 Stunden lang damit in Berührung gelassen und dann die Masse sorgfältig dialysiert.

Von dem Inhalte des Dialysierschlauches genügte danach schon eine Menge von 0,1 ccm, um eine frische 15 g schwere Maus durch intraperitoneale Einspritzung zu ermüden, während das nicht reduzierte dialysierte Ermüdungsmuskelplasma zu 0,5 ccm injiziert werden mußte, um die gleiche Wirkung hervorzurufen.

Daß es sich nach Anwendung der Reduktion tatsächlich um ein Ermüdungstoxin handelt, konnte dadurch bewiesen werden, daß die Absättigung mit Ermüdungsantitoxin (vom Pferde gewonnen) in genau derselben Weise und ebenso vollständig zu erzielen war, wie an dem früheren ohne Reduktionsmittel gewonnenen Toxin.

Freilich, ob alle Komponenten des Ermüdungstoxins durch die Reduktionswirkung entstehen, ist dadurch nicht bewiesen.

Das bei der Eiweißreduktion sich abspaltende Toxin.

Diese Erfahrungen führten natürlich zu dem Versuche, auch aus dem Muskelplasma eines nicht ermüdeten Meerschweinchens ein Toxin zu gewinnen und, als der Versuch positiv ausfiel, zu weiteren Experimenten aus einer ganzen Reihe von Eiweißarten mittels der verschiedensten Reduktionsmittel toxische Substanzen darzustellen. Auch diese Versuche fielen ohne weiteres positiv aus. Die erhaltenen Lösungen wirkten in ganz ähnlicher Weise toxisch, wie die des bisherigen Ermüdungstoxins und ließen sich durch dessen Antitoxin ebensogut absättigen. Es besteht demnach eine Gruppenreaktion zwischen allen

diesen Toxinen und dem durch Injektion von Ermüdungstoxin gewonnenen antitoxischen Pferdeserum. Das aus Muskeln hochermüdeter Tiere gewonnene Toxin hat also zum mindesten eine Komponente, die der Gruppe der bei der Eiweißreduktion entstehenden Toxine mit angehört.

Noch erübrigt zuzufügen, daß diese bei der Eiweißreduktion sich abspaltenden Toxine nicht so labil sind, wie das Ermüdungstoxin, jedenfalls, weil wir jetzt in der Lage sind, infolge der später des genaueren beschriebenen Technik bei weitem reinere und vor allem fermentfreie (s. sp.) Präparate herzustellen. Immerhin muß auch ihre Lösung frisch verwendet oder wenigstens nach sorgfältigem Dialysieren im Vakuum bei einer Temperatur von nicht über 25° getrocknet und in vollkommen evakuierten oder mit Wasserstoff gefüllten, zugeschmolzenen Röhren in flüssiger Luft aufbewahrt werden.

Ob in den Eigenschaften der bei Eiweißreduktion entstehenden Toxine noch Unterschiede bestehen, läßt sich vorläufig bloß summarisch bestimmen; es läßt sich z. B. nur sagen, daß das aus dem Eiweiß der grauen Substanz des Gehirns gewonnene Toxin bei weitem ermüdender wirkt als das aus Pflanzeneiweiß hergestellte. Anderseits zeichnen sich die aus Pflanzeneiweiß hergestellten Präparate durch etwas größere Haltbarkeit und einen weniger unangenehmen Geschmack aus. Und letzteres ist vielleicht nicht unwichtig, wenn man bedenkt, daß die bei der Eiweißreduktion entstehenden Toxine nicht nur von der Schleimhaut des Auges und des Dickdarms resorbiert werden, sondern, wie ich durch meine neuesten Untersuchungen weiß, unter Umständen von der Schleimhaut des nicht gefüllten Magens wenigstens zum Teil unzersetzt in den Kreislauf übergeführt werden können [1]), eine Tatsache, die bei der Nichtdialysierbarkeit dieser Toxine durch tote tierische Membranen und bei ihrer überaus großen Labilität namentlich bei Anwesenheit von Säuren fast noch überraschender ist als die leichte Durchlässigkeit des Magendarmtraktus für das spezifische Ermüdungsantitoxin [2]).

Die Technik bei der Gewinnung von den bei Eiweißreduktion entstehenden Toxinen ist relativ sehr viel einfacher als die früher beschriebene für Herstellung des Ermüdungstoxins aus lebenden Tieren. Immerhin sind auch hier mannigfache Versuche nötig gewesen, um zu der Methode zu gelangen, die zur Zeit zweifellos als die beste zu bezeichnen ist, zur Methode der Reduktion der Eiweiße mittels naszierenden Wasserstoffs.

Zuvor war, wie schon erwähnt, zu reduzierenden Salzen, schweflig-

---

[1]) Vergl. Kurve Nr. 63—80 und Text.
[2]) Vergl. Kurve Nr. 84—98 und Text.

saurem und salpetrigsaurem Natron, gegriffen worden. Es wurden Muskelplasmen oder andere Eiweißlösungen, z. B. das mit Wasser verdünnte Eiklar, mit Wasser verriebenes Gehirn, mit etwas Natronlauge und Wasser zu Brei gerührte Plazenta, aufgeschwemmte Pollen, zu gleichen Teilen mit Wasser vermischt, Serum oder abgetötete Bakterienleiber, z. B. der Tuberkelbazillen mit dem zehnten Teil entweder des schwefligsauren oder salpetrigsauren Natrons versetzt, 3 Stunden bei Blutwärme unter Umrühren digeriert, sorgfältig in kleinen Beuteln dialysiert und dann auf Abwesenheit von Salzen geprüft. Erst wenn sich ergeben hatte, daß diese höchstens noch in Spuren vorhanden waren, wurde die Dialyse definitiv unterbrochen, der Inhalt der Dialysierbeutel filtriert und durch intraperitoneale Injektion von 0,1—0,5 ccm bei 15 g schweren Mäusen die toxische Wirkung des Präparates festgestellt.

Auch mit Phenylhydrazin hatte ich Toxine aus Hühnereiweiß und anderen Eiweißen auf die gleiche Weise gewinnen können; auch hier ließ sich das überschüssige Phenylhydrazin mittels anhaltender Dialyse entfernen.

Als vorzüglichstes Reduktionsmittel jedoch erwies sich nascierender Wasserstoff:

Hühnereiklar, mit zwei Teilen Wassers verdünnt und einigen Tropfen 1%iger Salzsäure angesäuert, wird in einem weiten aseptischen Gefäße mit Natriumamalgam in kleinen Portionen ganz allmählich im Laufe von zwei Stunden versetzt, bis die Flüssigkeit deutlich alkalisch reagiert. Hierbei findet reichlich Entwicklung nascierenden Wasserstoffs statt, und die vorhandene Salzsäure wird durch das fortwährend entstehende Ätznatron nach und nach übersättigt. Nach Neutralisierung des Alkalis mit Salzsäure wird dann die Lösung dialysiert, filtriert und verwendet.

Ebenso konnte Aluminiumamalgam gebraucht werden:

Granuliertes Aluminium, durch verdünnte Sublimatlösung amalgamiert, mit Alkohol und destilliertem Wasser gewaschen, entwickelt, Eiweißlösungen zugesetzt, reichlich nascierenden Wasserstoff, wobei sich Toxine in ähnlicher Menge, wie bei dem vorhergehenden Versuche bilden. Da Aluminiumoxydhydrat und metallisches Quecksilber ausgeschieden werden, daher leicht abzutrennen sind, so ist der Verlauf des Versuches noch wesentlich einfacher wie der des vorigen. Nur scheint es hier, wenigstens bei gewissen Eiweißen, namentlich bei dem Eierklar und bei Serumeiweiß, relativ leicht vorzukommen, daß eine Überreduktion stattfindet, besonders wenn reichlich Aluminiumamalgam mehrere Stunden wiederholt zugesetzt einwirkt. Die dann erhaltenen Präparate sind unter Umständen ganz atoxisch.

In sehr eleganter Weise lassen sich mit dem von Herrn Prof. Paal dargestellten kolloidalen Palladium derartige Toxine herstellen. Durch dieses kolloidale Metall wird ja bekanntlich der gewöhnliche Wasserstoff, wie er dem Kippschen Apparate entströmt, aktiviert und wirkt dann wie naszierender H stark reduzierend (41).

Zu 90 ccm Eiereiweißlösung wurden zwei Tropfen 25%iger Natronlauge und 10 ccm kolloidalen Palladiums gesetzt, das mir von Herrn Prof. Paal gütigst überlassen worden war.

Trotzdem sich geringe Ausflockung zeigte, war nach einstündigem Durchleiten von Wasserstoff eine toxinhaltige Lösung entstanden, von der 1 ccm bei einer 15 g schweren Maus starke Ermüdungswirkung auslöste und die antitoxinbindenden Zellen derartig schädigte, daß die Maus noch 2 Tage nachher schwer benommen war. Eine aktiv und passiv vorher immunisierte antitoxische Kontrollmaus, welcher 2 ccm derselben, mittels kolloidalen Palladiums und Wasserstoffs hergestellten Eiweißreduktionslösung ebenfalls intraperitoneal injiziert worden war, zeigte keinerlei pathologische Erscheinungen, blieb vielmehr frisch und munter.

Elektrolyse.

Da naszierender Wasserstoff bekanntlich gut dosierbar und stets gebrauchsfähig mittels der Elektrolyse hergestellt werden kann, so wurde diese zu den Versuchen herangezogen und das Verfahren, da es sich für unsere Zwecke bewährte, für die Folge beibehalten. Die einschlägige Technik, bei deren Ausarbeitung mich Herr Privatdozent Dr. Jordis in liebenswürdiger Weise unterstützte, war folgende:

Als Stromquelle diente bei unseren Versuchen eine Batterie, der 6—28 Volt je nach Bedarf entnommen werden konnten.

Das zu reduzierende Eiweiß befand sich in einem Tonzylinder, in welchem die zylinderförmige negative Nickelelektrode von einem Elektromotor rasch rotiert wurde.

Die positive Platinelektrode tauchte in die den Tonzylinder umgebende Flüssigkeit, in welche als Elektrolyt Kochsalz zu 0,9% gegeben wurde.

Bei 0,1 Ampère berechnen sich die Na-Jonen, welche in das zu reduzierende Eiweiß gelangen, zu 85,68 mg pro Stunde. Läßt man während dieser Reduktionszeit 3,714 ccm Normalsalzsäure, mit destilliertem Wasser verdünnt, kontinuierlich zutropfen, so erhält man eine NaCl-Vermehrung in der zu reduzierenden Flüssigkeit um 217,5 mg.

Verdünnt man also 10 ccm Serum von einem Kaninchen mit 15 ccm destillierten Wassers, gibt es in dem Tonzylinder an die negative Elektrode und läßt während der einstündigen Wirkung von

0,1 Ampère 3,7 ccm Normalsalzsäure, mit 6,3 ccm destillierten Wassers verdünnt, zuträufeln, so erhält man ein mit physiologischer Kochsalzlösung verdünntes Serum.

Wird dann dieses Serum dem Kaninchen wieder einverleibt, so ruft es nunmehr die bekannte Toxinwirkung hervor.

Andersartige Wirkungen, z. B. von artfremdem Eiweiß, sind dabei ausgeschlossen, denn das Tier ist ja mit seinem eigenen Serumeiweiß behandelt worden.

Aus Gründen der später zu erörternden aktiven Immunisierung des Menschen auf dem Verdauungswege erschien es wünschenswert, möglichst die Nahrungseiweiße ohne Einbuße an Geschmack zu reduzieren. Dabei war es nötig, die Versuchsanordnung etwas abzuändern:

Bei der so leicht veränderlichen Milch erwies es sich als vorteilhaft, statt des NaCl als Elektrolyt in die Flüssigkeit an der positiven Elektrode $CaCl_2$ zu geben. Die an der negativen Elektrode ausgeschiedenen Ca-Ionen werden in zweckmäßiger Weise dadurch in unlösliche Form übergeführt, daß ein in Na_2CO_3-Lösung gewaschener CO_2-Strom durch die Milch geleitet wird.

Säuert man das Wasser an der positiven Elektrode an, um die Leitfähigkeit herzustellen, so ist es trotzdem zweckmäßig, durch die zu reduzierende Flüssigkeit einen schwachen CO_2-Strom zu leiten, da die entstehenden kohlensauren Alkalien den Geschmack, vor allem den der Milch, wenig zu beeinträchtigen pflegen.

Endlich ist es vorteilhaft, die Reduktionszeit möglichst abzukürzen, dafür aber die Stromstärke und die Elektrolyten so zu wählen, daß mit möglichst viel Ampère gearbeitet werden kann. Die dabei an der —Elektrode auftretende Erhitzung, welche das Toxin zerstören würde, kann durch rasches Rühren dieser Elektrode und geeignete Kühlung so herabgemindert werden, daß selbst bei 28 Volt Spannung und 4 bis 5 Ampère die Temperatur der zu reduzierenden Flüssigkeit nicht über 30° steigt.

Bei zahlreichen Reduktionsversuchen mit den verschiedensten Eiweißarten fiel die merkwürdige Tatsache auf, daß die Toxinausbeute der für die Eiweißreduktion angewandten Energie niemals vollkommen entsprach.

Aus diesem Grunde wurde untersucht, wie sich Eiweißlösungen verhalten würden, wenn man sie anstatt mit naszierendem Wasserstoff mit aktivem Sauerstoff behandelte.

Zu dem Zwecke wurde die Eiklarlösung an die positive Platinelektrode des Stromkreises gegeben. Tatsächlich bildete sich auch hierbei eine toxische Substanz, die der in den früheren Versuchen an der Kathode entstandenen vollkommen gleich war: Sie ist wasserlöslich, nicht dialysierbar und kann durch das Ermüdungantitoxin abgesättigt werden.

Dieser Ausfall der Versuche mußte, entgegen meiner ursprünglichen Ansicht von der Wichtigkeit der Reduktionsmittel zur Toxinbildung, auf den Gedanken führen, ob man dieselben Toxine auch mit Oxydationsmitteln erreichen könne. Ich nahm Wasserstoffsuperoxyd, oder verdünnte Salpetersäure oder Chlorwasser und oxydierte damit Eiweiß.

Stets zeigten die dabei entstandenen, dann dialysierten und filtrierten Produkte einen deutlichen Gehalt von Toxin, das sich mit ermüdungsantitoxinhaltigem Serum absättigen ließ. Diese merkwürdigen Tatsachen führten auf Grund meiner Syncytial- und Heufieberstudien zu folgenden theoretischen Schlußfolgerungen:

Die Reduktion und Oxydation hat mit der Entstehung der Ermüdungstoxine unmittelbar jedenfalls nichts zu tun. Wahrscheinlich verhält sich die Sache so, daß bei der Aufspaltung von Eiweißmolekülen als Nebenprodukte sehr labile Substanzen von toxischer Wirkung entstehen.

Diese haben die Eigenschaft, beim Tiere Ermüdungserscheinungen hervorzurufen und sind dem Ermüdungstoxin insbesondere dadurch sehr ähnlich, daß auch sie durch Ermüdungsantitoxin abgesättigt werden.

Sowohl das aus den Muskeln gewonnene, als auch das bei Reduktion und Oxydation von Eiweiß entstehende Ermüdungstoxin ist in Wasser löslich, aber nicht dialysabel. In dieser Hinsicht unterscheidet es sich also von den bekannten Bakterientoxinen nicht, insbesondere aber ist ihm das Hauptcharakteristikum der Bakterientoxine eigentümlich, nämlich die Bildung eines spezifischen Antitoxins. Das führt zu der Schlußfolgerung, daß sowohl die aus dem Muskelplasma hochermüdeter Tiere isolierten und von allen chemisch definierbaren Abbauprodukten befreiten Stoffe, als auch die bei Eiweißreduktion und Oxydation in vitro dargestellten, nicht dialysablen toxischen Substanzen echte, wohl charakterisierte Toxine sind.

Anderseits ist bewiesen, daß nach Injektion von Ermüdungstoxin oder von anderen bei der Eiweißspaltung entstandenen Toxinen ein Serum gewonnen wird, das alle jene genannten Toxine in vitro und im Tierkörper abzusättigen im stande ist, demnach enthält ein solches Serum ein spezifisches Antitoxin.

Das Ermüdungsantitoxin.

Zahlreiche Absättigungsversuche haben diese Tatsache vollauf bestätigt. Das Ermüdungsantitoxin stimmt in seiner Eigenschaft, Toxinwirkungen abzuschwächen bezw. aufzuheben, mit den bekannten Bakterienantitoxinen überein, es ist ihnen auch in der Beständigkeit ähnlich, unterscheidet sich aber von ihnen dadurch, daß es durch tierische Membranen geht.

Es hat sich herausgestellt, daß Ermüdungsantitoxin, welches zweifellos im normalen Zellleben eine wichtige Rolle spielt, die Eigenschaft hat, den Organismus leichter gegen die Toxinwirkung zu schützen, wenn es eine gewisse Zeit vor dem Toxin in den Körper des Versuchstieres gelangt.

Bei diesem Modus gelingt es mit überaus minimalen Mengen des Antitoxins erhebliche, ja unter Umständen mehrfach tödliche Dosen des Ermüdungstoxins abzusättigen.

Diese vielfach beobachtete Tatsache möge an dieser Stelle zunächst festgelegt werden. Sie mit den bisher gültigen Anschauungen der Immunitätslehre in Einklang zu bringen und ihre Ursachen zu ergründen, soll einer Reihe von Erörterungen vorbehalten sein.

Wird Ermüdungsantitoxin gegen destilliertes Wasser dialysiert, und dieses Wasser im Vakuum verdunstet, so bleibt ein graugelbes, schuppiges Pulver zurück, das außer Salzen und sonstigen dialysablen Bestandteilen des Serums reichlich Antitoxin enthält, so daß es ein zweckmäßiges Dauerpräparat zu Absättigungsversuchen darstellt; denn seine Haltbarkeit im Dunkeln über Chlorcalcium ist, wie es scheint, unbegrenzt.

Aus diesem Präparate ein wenn möglich ganz reines Antitoxin zu gewinnen, ist eine sowohl theoretisch als praktisch gleich wichtige Aufgabe. Theoretisch wichtig, weil ein ganz reines Antitoxinpräparat vielleicht zur Erkenntnis der chemischen Konstitution des Antitoxins führt, praktisch wertvoll, weil ein möglichst reines Antitoxintestpräparat für die genaue Wertbestimmung des Toxins Erfordernis ist.

Ich habe deshalb zunächst verschiedene Lösungs- und Fällungsversuche mit dem soeben beschriebenen Trockendialysat des antitoxinhaltigen Pferdeserums ausgeführt.

Das Antitoxin erwies sich außer in Wasser als unverändert löslich in Toluol und Aceton.

Selbstverständlich konnten mit den kleinen Mengen der bis jetzt zu Gebote stehenden antitoxinhaltigen Präparate ausgedehnte chemische Untersuchungen nicht vorgenommen werden. Doch muß man nach den bisherigen Erfahrungen schon jetzt der Ansicht zuneigen, daß das Ermüdungsantitoxin ein bis zur Dialysierbarkeit verändertes Eiweiß, vielleicht eine Albumose oder noch eher eine peptonartige Substanz sein dürfte.

Übrigens ist es doch schon gelungen, ein durchaus haltbares, sehr antitoxinreiches Testpräparat durch wiederholte Behandlung des Serumtrockendialysates mit Toluol, nachheriges Verdunsten der Lösung, Ausschütteln mit Wasser und Wiederverdunsten zu gewinnen.

Wenn man von einer Lösung dieses Testantitoxins in 1000 Ge-

wichtsteilen Wasser 0,01 ccm einer Maus Tags vorher beibringt, so wird dadurch die einfache Ermüdungsdosis (Maus E.T. I.) des spezifischen Toxins vollständig aufgehoben.

Da somit überaus geringe Mengen des Antitoxins, dem Tiere vorher eingeführt, genügen, die Wirkung des Ermüdungstoxins auf den tierischen Organismus aufzuheben, so lag der Gedanke nahe, ob nicht unser auf Injektion von reduziertem Eiweiß vom Tierkörper erzeugtes Antitoxin in die Gruppe derjenigen Stoffe zu rechnen sei, welche als Oxydasen und Katalasen als Sauerstoffvermittler seit einigen Jahren das Interesse der Chemiker auf sich lenken.

Das Serum zweier mit Ermüdungstoxin behandelter Pferde, sowie ein mit Kaninchenserumreduktionstoxin behandeltes Kaninchen wurden daher auf ihren Oxydasengehalt nach der Guajakprobe von Leffmann (25) und nach der Paraphenylendiaminprobe von Storch (51) geprüft.

Das zur Injektion des Kaninchens verwendete Kaninchenserum war, wie vorhin beschrieben, an der negativen Elektrode, also mit naszierendem Wasserstoff reduziert worden. Nach Verdünnung mit gleichen Teilen destillierten Wassers wurden so viel Coulomb angewandt, daß das reduzierte Serum nach kontinuierlicher Neutralisation der aus der Kochsalzlösung, die sich an der +Elektrode befand, entstehenden Na-Jonen mit Salzsäure als mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung verdünnt anzusehen war.

Es zeigte sich nun in der Tat bei kolorimetrischen Vergleichsversuchen, daß die Sera der beiden Pferde und des Kaninchens im Vergleich zu gleich alten Seren von Tieren derselben Spezies bedeutend stärkere Oxydasereaktionen gaben.

Vorausgesetzt, daß dieses Verhalten sich als konstant erweist, so daß sich an einer größeren Tierreihe eine derartige Vermehrung der Oxydasen nach wiederholter Injektion reduzierter Eiweiße nachweisen läßt, so hätten wir auch die hier gewonnenen Oxydasen als eine besondere Art von Antikörpern zu betrachten. Immerhin würde diese Erkenntnis uns nicht gerade eine wesentlich besser definierte Antikörperart bescheren, da man überhaupt noch nicht weiß, was für chemische Individuen die Oxydasen sind.

Aber in unserem Ermüdungsantitoxinserum und den daraus gewonnenen Präparaten ging die Erhöhung des Oxydasengehaltes mit der Wertigkeit der Präparate durchaus nicht parallel. Schon deshalb ist es unwahrscheinlich, daß es sich um ein Ferment oder einen fermentähnlichen Körper im Sinne der Oxydasen und Katalasen handelt.

Vor allem aber sprach die Hitzebeständigkeit des Antitoxins gegen diese Auffassung.

Einwirkung verdauender Fermente auf das Ermüdungstoxin.

Daß auch andere und zwar verdauende Fermente, obgleich sie unser Toxin vernichten, nichts mit der eigentlichen Antitoxinwirkung zu tun haben, wird durch folgende Tatsachen sichergestellt:

Sehr leicht war zu bemerken, daß das Toxin nicht nur durch die Lymphbahnen des Auges, sondern auch durch die des Mastdarmes schnell in den Blutstrom übergeht und Ermüdung, Temperaturerniedrigung, ja unter Umständen den Ermüdungstoxintod der Versuchstiere herbeiführt.

Sehr viel schwieriger gelang es dagegen, Versuchstiere durch Fütterung von toxinhaltigen Präparaten zu ermüden. Zweifellos wurde ein großer Teil des Toxins vor seiner Aufnahme in das Blut durch die Verdauungssäfte des Magens vernichtet.

Um hierüber Klarheit zu gewinnen, mußte zunächst der Einfluß des Pepsins auf Ermüdungstoxin in vitro studiert werden.

Zu dem Zwecke wurden gleich große muntere Mäuse von je 10 g Gewicht und 37° Aftertemperatur, die alle schwierig in Rückenlage zu bringen, in freier Rückenlage überhaupt nicht zu halten waren, in folgender Weise behandelt:

Von dem 3 Tage alten Trockenrückstand einer durch Elektrolyse reduzierten Aufschwemmung von Weizenkleber wurden 10 mg mit einigen Tropfen Wasser zu einem Brei angerührt. Durch $^1/_4$ stündige Einwirkung von 5 mg Pepsin und 1 Tropfen sehr verdünnter HCl war dieser Brei bereits entgiftet, denn es gelang mit ihm nicht, eine Maus zu ermüden, selbst wenn auf jedes Auge ein großer Tropfen des Breies gebracht und diese Aufträufelung mehrmals in Zwischenräumen von 5 zu 5 Minuten wiederholt worden war.

Sie konnte niemals in freie Rückenlage gebracht werden, während dies bei der Kontrolle mit der ursprünglichen Toxinlösung leicht möglich war; denn ein Tropfen einer ähnlichen Aufschwemmung von reduziertem Weizenkleber ohne Pepsin und Salzsäure zur Einträufelung auf das Auge verwendet, brachte 15 Minuten nach dem vorigen Versuch bei derselben frischen und munteren Maus schon nach Verlauf von 4 Minuten deutliche Ermüdungserscheinungen hervor. Das Tier wurde sichtlich schlaffer und war ziemlich leicht in freie Rückenlage zu bringen. Dies gelang durch nochmalige Aufträufelung von Toxinlösung für eine Dauer von über 30 Sekunden; so daß damit der erste Ermüdungsgrad (Maus E.T. I.) erreicht war.

Es könnte nun jemand auf den Gedanken kommen, die vernichtende Wirkung des Pepsinfermentes gegenüber dem Toxin wäre eine antitoxische.

Wenn dieser Einwand auch von vornherein nicht als stichhaltig angesehen werden kann, so habe ich ihn doch in zwei Versuchsreihen berücksichtigt:

Bei der einen habe ich das Pepsin vor dem Zusatz zum Toxin 2 Minuten lang gekocht. Dadurch hätte Antitoxin nicht vernichtet werden können, aber die Wirkung des Pepsins war aufgehoben. Der Toxinbrei war so giftig wie vorher.

Bei der anderen Versuchsreihe habe ich Pepsin mit Toluol extrahiert. Toluol löst, wie erwähnt, das Ermüdungsantitoxin. Wäre solches in der Pepsinlösung vorhanden gewesen, so hätte es in das Toluol übergehen und nach dem Verdunsten des Filtrates in konzentrierter Form übrig bleiben müssen. Ein derartig gewonnener Rückstand hatte aber bei der beschriebenen Versuchsanordnung keinerlei schädigende oder antitoxische Wirkung auf den Toxinbrei.

Natürlich erschweren die Verdauungsfermente die Aufnahme des fertigen Toxins durch den Magen. Aber durch den leeren, nicht verdauenden Magen gelingt es, von größeren Quantitäten fertig gebildeten Toxins gewisse Mengen in den Kreislauf zu bringen. Das beweisen die Kurven 63—80 und 84—98. Vielleicht kann die Passage des Toxins durch die Wand des leeren Magens durch gleichzeitiges Eingeben von Antipepsin noch befördert werden. Versuche nach dieser Richtung hin sollen an einem größeren klinischen Materiale durchgeführt und deren Resultate von anderer Seite mitgeteilt werden.

Maßmethoden.

Was die Wertbemessung der Ermüdungstoxine und deren Antitoxine betrifft, so haben zahlreiche Versuche, ähnlich wie bei den Bakterientoxinen eine D. l. (Dosis letalis) zu bestimmen, zu keinen befriedigenden Resultaten geführt.

Es gelingt allerdings in der Regel mittels ganz frisch bereiteter Toxine, namentlich auch mit den von indifferenten Eiweißen möglichst befreiten Ermüdungstoxintrockenpräparaten, den Tod der Versuchstiere mit ziemlich sicher zu bestimmenden Toxinmengen durch Einspritzung in die Bauchhöhle nach einer Latenzzeit von 20—40 Stunden herbeizuführen.

Wenn dann in der Leiche des Versuchstieres pathologische Organveränderungen nicht aufzufinden sind, wenn namentlich das Peritonäum glatt und spiegelnd, die Därme nicht wesentlich aufgetrieben, die Milz- und Nebennieren nicht abnorm groß gefundeu werden, so kann die Diagnose: Tod infolge von Ermüdungstoxineinwirkung auf die Großhirnzentren gestellt werden. Hierzu gehört freilich noch, daß die Erscheinungen nach der Injektion typische gewesen sind: nämlich Somno-

lenz, Herabgehen der Körpertemperatur unter 30°, Verlangsamung der Atmung bis zum Stillstand.

(Nach dem Aufhören der Atmung pflegt das Herz noch geraume Zeit weiterzuschlagen. Diese starke Schädigung des Atmungszentrums bei Fortbestehen der Herztätigkeit ist neben dem Niedergang der Körperwärme eines der Hauptcharakteristika der reinen Ermüdungstoxinwirkung nach intraperitonealer und subkutaner Injektion größerer Dosen.)

Jedoch erschien es nicht vorteilhaft, die D. l. der Wertbestimmung unserer Toxine zu Grunde zu legen und zwar aus folgenden Gründen:

Die tödliche Komponente unserer Toxine ist die bei weitem labilste. Ist die Prüfung eines flüssigen Toxinpräparates auch nur um einen Tag verschoben worden, so versagt die Bestimmung der D. l. in der Regel vollkommen.

In Anbetracht der eventuellen praktischen Verwendungen des Ermüdungstoxins und Antitoxins empfiehlt es sich zweifellos, die weit wichtigere und dabei weniger labile Ermüdungskomponente der Messung zu Grunde zu legen.

Die Bestimmung der einfachen Ermüdungsdosis: Einem Versuchstiere, am besten einer frischen kleinen, nicht über 10 g schweren Maus [1]), deren Körpertemperatur nicht unter 37° gefunden worden und bei der genau untersucht worden ist, ob nicht etwa das Phänomen des reflektorischen Liegens hervorgerufen werden kann, wird auf die Augen je ein großer Tropfen der betreffenden Toxinlösung gebracht und dafür gesorgt, daß die Augen 5—10 Minuten lang vollkommen bedeckt sind. Es ist dazu nötig, das Tier diese Zeit über so zu halten, daß es die Flüssigkeit nicht mit den vorderen Extremitäten von den Augen entfernen kann.

---

[1]) Die für solche Versuche bestimmten Tiere müssen besonders vorsichtig gehalten werden, da Mäuse auf alle möglichen Schädigungen, besonders auf Temperaturerniedrigung der Umgebung dadurch reagieren, daß sie eine gewisse Starre zeigen.

Sobald die kleinen Tiere im stande sind, selbständig Nahrung von eingeweichten Weizenkörnern zu sich zu nehmen, nimmt man den ganzen Wurf aus dem Zuchtkäfig und überträgt ihn in ein nicht zu hohes geräumiges Mäuseglas. Einzeln die Tiere in Gläser zu setzen ist zu vermeiden. Der Boden wird mit dicker Torfmullage hoch bedeckt, um CO_2-Intoxikation zu vermeiden.

Der Freßnapf wird von oben, aber nicht zu hoch eingehängt.

Das ganze Gefäß wird dann in einen gut ventilierten gleichmäßig etwa auf 28° temperierten Wärmeschrank gestellt.

Kleine gesunde Mäuse pflegen sich rasch an die neuen Lebensbedingungen zu gewöhnen, sind dann auffallend munter und reflektorisch nicht zum Liegen zu bringen. Sie reagieren ganz charakteristisch auf das spezifische Toxin in der zu beschreibenden Weise.

Ist der Toxingehalt der Lösung nicht zu niedrig, so genügt die geringe Menge, die während 5—10 Minuten durch die Lymphbahnen des Auges auf das nahe Gehirn wirkt, vollkommen, um das Tier in den Zustand der einfachen Ermüdung zu versetzen (Maus E.T. I.). Um diesen zu erkennen, bedient man sich am besten folgender Technik:

Die Maus wird an der Wurzel des Schwanzes gefaßt und vollständig herumgedreht, so daß sie auf weicher Unterlage auf dem Rücken liegen muß. In dieser Lage wird sie 30 Sekunden gehalten. Dann vermindert man allmählich und vorsichtig den Fingerdruck auf die Schwanzwurzel, gleitet mit den Fingerspitzen leise nach der Schwanzspitze zu und läßt schließlich ganz sachte erst mit dem einen, dann mit dem anderen Finger los. Nun muß das Tier mindestens 30 Sekunden frei in der Rückenlage bleiben. Dann ist Maus E.T. I. zur richtigen Wirkung gekommen.

Noch sicherer gestaltet sich die Diagnose, wenn eine gleichgroße, gleichmuntere Kontrollmaus, der Tags vorher 1 mg des ermüdungsantitoxinhaltigen Trockenserums per os einverleibt und 30 Minuten vor der Toxinaufträufelung auf die Augen etwas antitoxinhaltiges Serum auf die Konjunktiven gebracht worden ist, nicht in die dauernde freie Rückenlage zu bringen ist.

Der Zustand Maus E.T. I. steht der physiologischen, durch Muskelbewegung entstehenden Müdigkeit sehr nahe und vergeht dementsprechend recht bald, schon nach 15—20 Minuten, wieder. Die Toxinmaus ist nach dieser Zeit zumeist ebenso munter, wie vor dem Versuch und trotzt dann allen Bemühungen, sie in freie Rückenlage zu bringen.

Ist das zu untersuchende Präparat toxinreicher oder handelt es sich um ein dem Nervensystem besonders adäquates, wie z. B. um das aus der grauen Substanz des Großhirns hergestellte Toxin, so verläuft der Augenversuch bei weitem nicht so flüchtig: Die Maus ist dann bereits nach 5 Minuten hinreichend müde und bleibt selbst auf einer harten Unterlage 1—2 Minuten lang liegen, ohne Anstalten zu machen, sich aus der unbequemen Lage durch Herumdrehen zu befreien. Die Ermüdung kann sogar bis zu 12 Stunden fortbestehen, und es ist dem Geübten in dieser Zeit immer noch möglich, die Maus auf harter Fläche zur freien Rückenlage für 30 Sekunden zu bringen. 1 Stunde nach Anfang des Versuchs tritt als ein weiteres Symptom der Toxinwirkung eine Temperaturerniedrigung ein, die allerdings nur sehr mäßig, aber doch durch ein gutes Mäusethermometer deutlich nachzuweisen ist; sie beträgt etwa 1^0 (= Maus E.T. II.).

Auch für diese Feststellung empfiehlt sich der gleichzeitige Augenversuch bei einer Kontrollmaus, der Tags vorher 10 mg des anti-

toxischen Trockenserums per os beigebracht und 0,1 mg des zehnfach verdünnten antitoxischen Serums eine halbe Stunde vor dem Versuche in je ein Auge geträufelt worden ist; sie darf nach Aufträufelung des Toxins weder Ermüdung noch Temperaturerniedrigung zeigen.

Soll der Toxingehalt mit noch größerer Sicherheit festgestellt werden, so wird die betreffende Toxinlösung, welche allerdings bakterienfrei und sehr gut dialysiert sein muß, den Mäusen in die Bauchhöhle gespritzt. In der Regel tritt 1 Stunde nach der intraperitonealen Injektion von 0,5 ccm der frisch bereiteten neutralisierten und dialysierten Eiweißreduktionslösung Maus E.T. II. ein, d. h. die Ermüdung der Maus ist hochgradig, die Temperatur sinkt bis 35° und noch am anderen Tag läßt sich an der noch immer müden Maus eine Temperaturerniedrigung von 1° nachweisen.

Ist die Versuchsmaus nach intraperitonealer Injektion von 0,5 ccm nach 1 Stunde soporös, ist ihre Körpertemperatur nur noch 34°, und sinkt diese noch weiterhin, so daß 12 Stunden nach der Injektion nur eine Temperatur von 30° durch Aftermessung nachgewiesen werden kann, so ist der Tod des Tieres nach weiteren 12 Stunden zu erwarten. Die Dosis des Präparates bezeichnen wir dann als Maus D. l. I.

Wird einer frischen Maus von 15 g Gewicht 1 ccm der betreffenden toxinhaltigen Lösung intraperitoneal injiziert und stirbt sie unter steter Verlangsamung der Atmung und Abnahme der Körpertemperatur nach 10—12 Stunden, so ist, falls in der Leiche irgend eine makroskopische pathologische Organveränderung nicht nachgewiesen werden kann, die betreffende Toxinmenge als Maus D. l. II. oder als doppelt tödliche Ermüdungstoxindosis zu bezeichnen.

Aus dem Vorhergehenden ergibt sich, daß eine ganz exakte Wertbestimmung des Ermüdungstoxins vorderhand noch auf recht erhebliche Schwierigkeiten stößt.

Ich bin daher bemüht gewesen, auf anderen Wegen zu sichereren Wertbestimmungen zu gelangen.

Vor allem zog mich das in der Physiologie gebräuchliche Verfahren an, bei dem Muskelzuckungen durch elektrische Reizung mit Strömen bekannter Stärke hervorgerufen und durch Hebelübertragung auf dem geschwärzten Papier einer rotierenden Trommel fixiert werden.

Zunächst war es Herr Geheimrat Zuntz in Berlin, der mich, was ich hier dankend hervorheben möchte, in den Gebrauch dieser Methode mit großem Entgegenkommen eingeführt hat, später durfte ich mich des fachmännischen Rates des Herrn Prof. Rosenthal in Erlangen erfreuen, der mich mit dem Schatze seiner überaus reichen Erfahrung in liebenswürdigster Weise unterstützt hat. Auch Herrn Privatdozenten Dr. R. Fuchs verdanke ich manchen wertvollen Wink.

Kymographionkurven.

Meine Technik hat mannigfache Wandlungen erfahren. Um für den vorliegenden Zweck vergleichbare Ermüdungskurven und möglichst hochgradige Antitoxinwirkungen graphisch darstellen zu können, erwiesen sich kurz dauernde, mit dem faradischen Strom erzeugte Tetani, die durch einen Metronomkontakt jede Sekunde hergestellt wurden, nach sehr vielen Versuchen als am geeignetsten.

Anfangs durchschnitt ich den einen Nervus ischiadicus der Maus und legte ihn über versenkbare Elektroden. Später fand ich es für meine Zwecke vorteilhafter, die eine Elektrode mittels Klemme an der Unterlippe der Maus zu befestigen und mit der anderen die Wirbelsäule von beiden Seiten zu fassen, und zwar an einer Stelle, die mit dem Millimetermaß vorher bestimmt wird; sie liegt genau in der Mitte zwischen dem tiefsten Stande des unteren Lungenrandes und der Grube, welche durch Abgang der Glutaealmuskel vom Kreuzbein gebildet wird.

Durch einen kleinen unblutigen Hautschnitt ist die betreffende Stelle dem Auge leicht zugänglich zu machen. Diese unumgängliche Verletzung des Tieres ist übrigens gegenüber der beim Aufsuchen des Ischiadicus gesetzten nur ganz minimal und verheilt in wenigen Tagen.

Als schreibender Muskel dient der Gastrocnemius, dessen Sehne mit dem schreibenden Hebel verbunden wird.

Um durch verschieden straffes Aufspannen die Gleichmäßigkeit der Resultate nicht zu beeinflussen, habe ich ein bestimmtes Gewicht (200 g) mit Seidenfäden über Rollen geleitet und daran die vorderen Extremitäten und den Kopf der hinten gut fixierten Maus befestigt, so daß sie gleichmäßig und stetig nach vorn gezogen wurden.

Als Stromquelle diente ein Akkumulator von 2 Volt.

Bei Vergleichsversuchen wurde der Abstand der primären und sekundären Spirale immer gleich gehalten. Die Mäuse hatten gleiches Gewicht, sie waren stets unmittelbar dem warmen Stall entnommen und vorher nur mit Vegetabilien gefüttert worden[1]). Ihre Körpertemperatur wurde vor Beginn des Versuches mittels Mäusethermometers stets sorgfältig geprüft. Zeigte sie sich geringer als 37°, so sah ich von der Verwendung des betreffenden Tieres ab.

Bei genauer Berücksichtigung all dieser Vorsichtsmaßregeln erhielten wir eine Anzahl nacheinander geschriebener Normaler-

---

[1]) Fleisch und Milch enthalten Spuren von Ermüdungsantitoxin, die bei feineren Versuchen stören können.

müdungskurven, die bei gleichgroßen Mäusen nur wenig voneinander abweichen. Vgl. Kurven Nr. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 17, 19, 21.

Recht wesentlich verschieden davon sind die Toxinkurven gleichgroßer Mäuse, denen vor dem Versuche Ermüdungstoxin in die Bauchhöhle gespritzt worden war.

Hatte man eine größere Dosis Toxin injiziert, durch welche das Tier schwer ermüdet und die antitoxinbildenden Zellen geschädigt worden waren, so fand in Bestätigung der aus der Immunitätslehre bekannten Beobachtungen eine Antitoxinbildung nicht statt. Nach einer Latenzzeit von 3—4 Stunden zeigte die Kurve einer intraperitoneal mit einer größeren Dosis Toxins injizierten Maus vielmehr einen ausgesprochenen Toxintypus, d. h. der Niedergang der Hubhöhen war etwas beträchtlicher als der von Normalmäusen. Nach einer Latenzzeit von 15—30 Stunden und bei starken Dosen war der Toxintypus der Kurve, d. h. das raschere Absinken der Hubhöhen noch weit ausgesprochener. Die Kurven 32, 35, 38 zeigen diesen Typus gegenüber den Normalkurven 31, 34, 37.

Oft pflegt bei derartigen Toxindosen, bei denen die Tiere schließlich zumeist unter Körpertemperaturerniedrigung und Verlangsamung der Atmung nach einer Latenzzeit von 20—30 Stunden sterben, auch die anfängliche Reizbarkeit herabgesetzt zu sein, so daß bei gleicher Stromstärke und gleichem Rollenabstand die Kurve nur noch eine subenergetische Gesamtleistung der Maus anzeigt, vgl. die Kurven 24, 25, 49, 50.

Aktive Immunisierung.

Wird den Tieren dagegen nur eine geringe Toxindosis injiziert, welche die antitoxinbildenden Zellen nicht schädigt, sondern sie nur reizt, so entstehen Kurven, an denen die Gesetze der Immunität nicht minder zum Ausdruck gelangen, wie bei den vorherigen Kurven nach schwerer Ermüdungsintoxikation:

Derartige Kurven zeigen nach einer gewissen Latenzzeit überhaupt gar nicht den Typus von Ermüdungskurven. Die Hubhöhen gehen nicht entfernt so schnell herab, wie bei jenem Typus der schweren Ermüdung, ja in der Regel sogar noch langsamer als bei den Kurven von normalen, durch unterbrochene Tetani gereizten Mäusen.

Es ist also infolge des Toxinreizes eine übernormale Antitoxinentwicklung seitens der antitoxinbildenden Zellen eingetreten, die nicht nur das injizierte Toxin, sondern außerdem noch einen Teil des durch die Tetani erzeugten Ermüdungstoxins abgesättigt hat.

Eine so injizierte und dann gereizte Maus hat also, wie aus den Endwerten der Kurven erhellt, eine sogar erheblich größere Leistungsfähigkeit als sie normale Mäuse besitzen (vgl. die Kurven 11 und 12 gegenüber der Normalkurve 9, ferner Kurve 22 gegenüber der Normalkurve 21).

Gerade diese Art von Kurven illustriert in ganz vorzüglicher Weise das Eintreten eines Zustandes im Organismus, den die Immunitätsforschung mit dem Namen der aktiven Immunität belegt hat.

Eine, wenn auch geringe, aktive Immunität tritt sogar auch bei Mäusen zu Tage, die lediglich eine normale Ermüdungskurve geschrieben haben, wenn man sie nach einer Latenzzeit von 20—30 Stunden, ohne irgend eine weitere Behandlung vorzunehmen, abermals eine Kurve unter den gleichen Bedingungen schreiben läßt (vgl. Kurve 18 gegenüber Normalkurve 17, ferner Kurve 20 gegenüber Normalkurve 19).

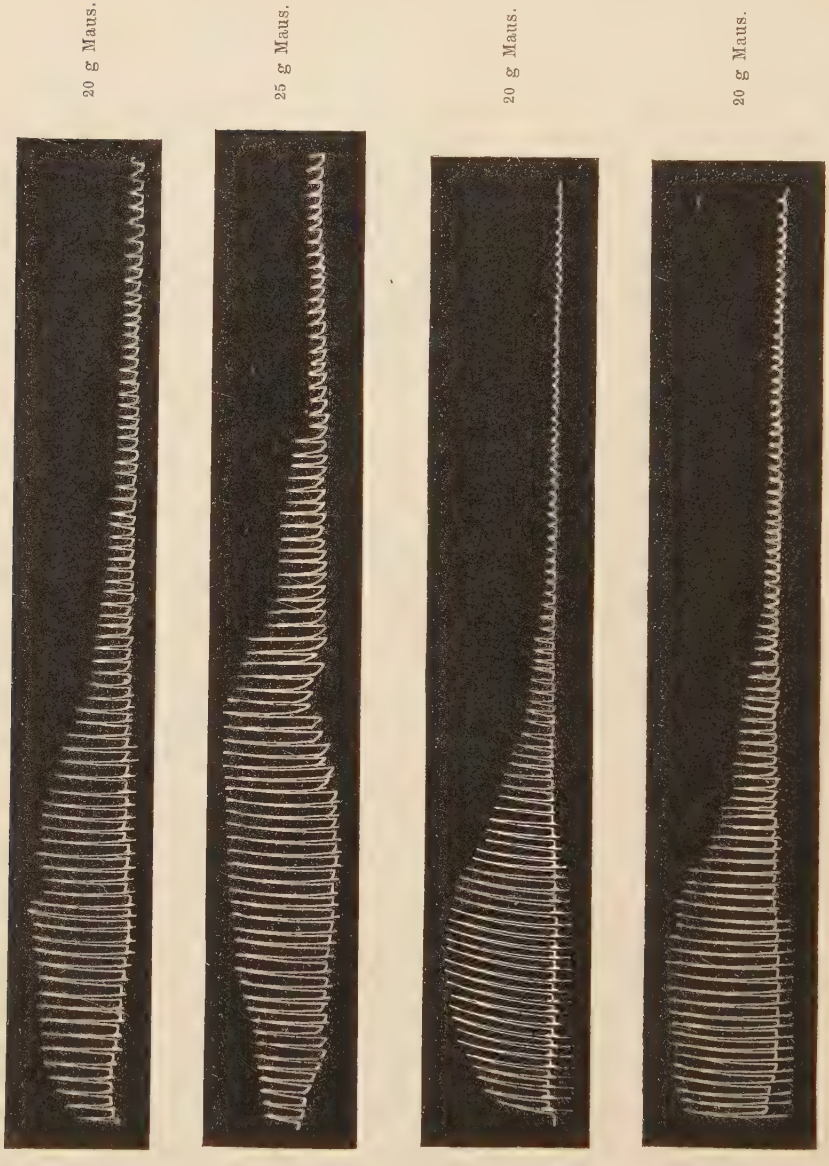
Es ist deshalb entschieden exakter, für Versuchsreihen zur Messung von Toxin-Antitoxinwirkungen sich einer Anzahl gleich großer und gleich gehaltener Mäuse zu bedienen.

In die Rubrik der aktiven Immunisierungen gehören ferner die Kurven 33, 36, 39, 43, 26, 27, 28, deren Deutung noch interessanter ist [1]).

---

[1]) Alle diese Kurven haben nur den Endzweck möglichst deutlich Toxin- und Antitoxinwirkungen zur Anschauung zu bringen. Deshalb ist zunächst davon abgesehen worden, sie für ganz besondere Feinheiten anderweiter physiologischer Beobachtung zu verwerten.

Normalermüdungskurven (50 g Belastung).



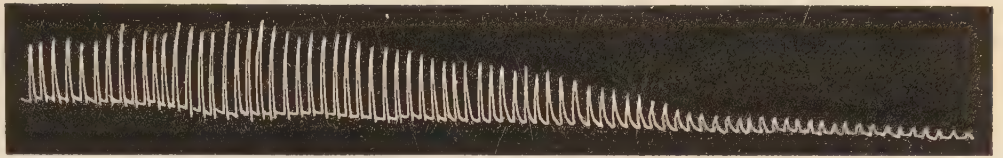
Kurve 5.

20 g Maus.

Kurve 6.

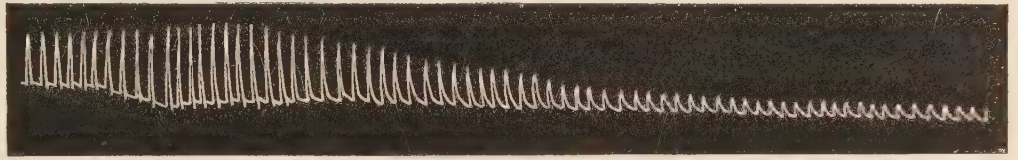
20 g Maus.

Kurve 7.



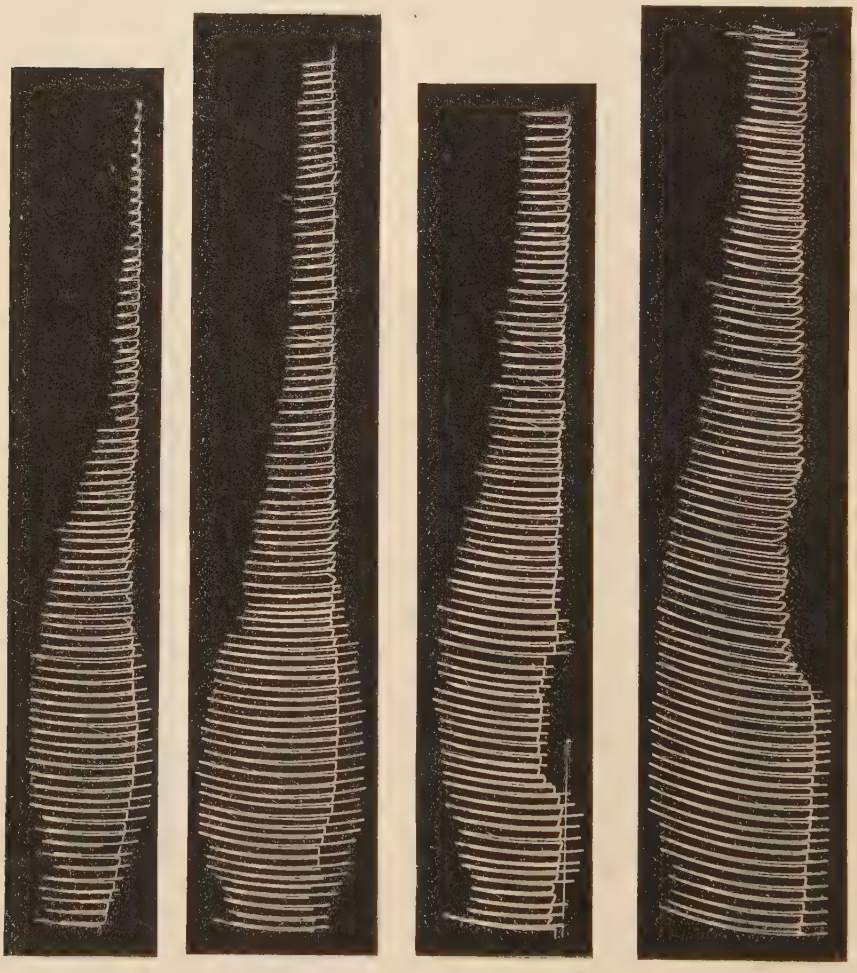
15 g Maus.

Kurve 8.



10 g Maus.

Aktive Immunisierungen.



25 g Maus.
50 g Belastung.
Normalkurve.

Kurve 9.

25 g Maus.
50 g Belastung.
Schwache Toxindosis
(0,1 cc).
Latenzzeit 3 Std.

Kurve 10.

25 g Maus.
50 g Belastung.
Schwache Toxindosis
(0,1 cc).
Latenzzeit 10 Std.

Kurve 11.

25 g Maus.
50 g Belastung.
Schwache Toxindosis
(0,1 cc).
Latenzzeit 20 Std.

Kurve 12.

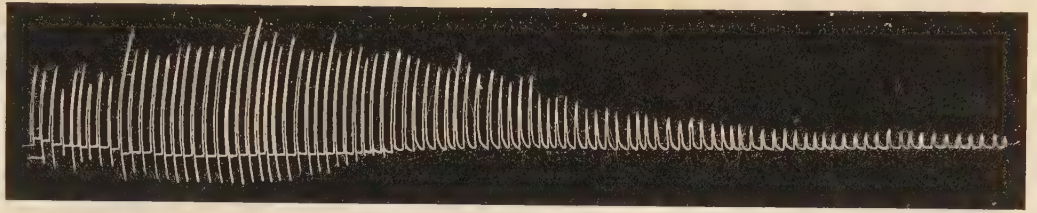
Kurve 17.

25 g Maus.
50 g Belastung.
Normalkurve.

Kurve 18.

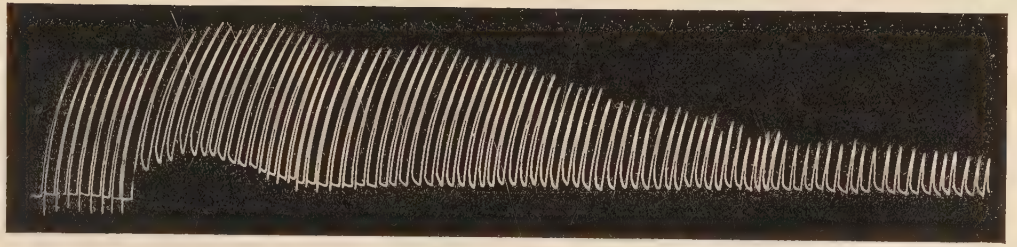
Dieselbe Maus.
50 g Belastung, nach einer
Latenzzeit von 25 Std.

Kurve 19.



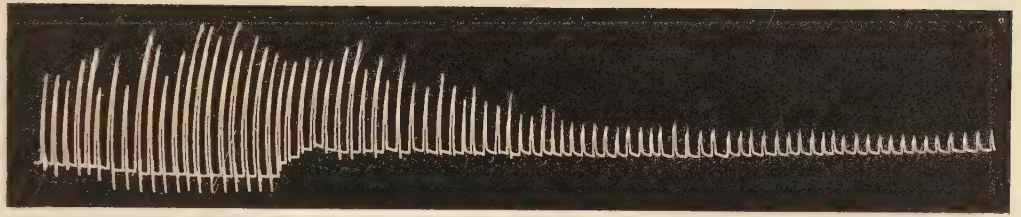
25 g Maus.
50 g Belastung.
Normalkurve.

Kurve 20.



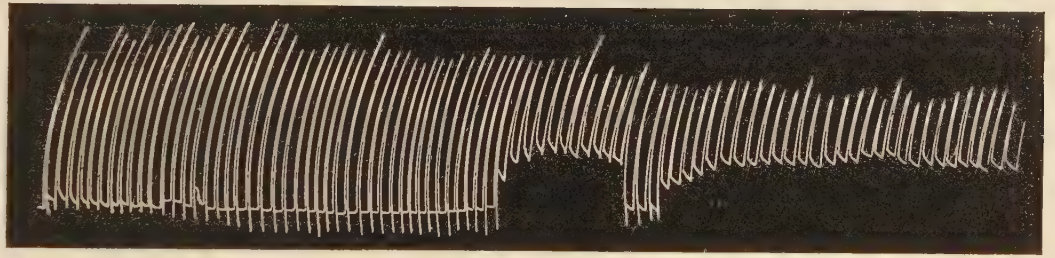
Dieselbe Maus.
50 g Belastung, nach einer
Latenzzeit von 25 Std.

Kurve 21.



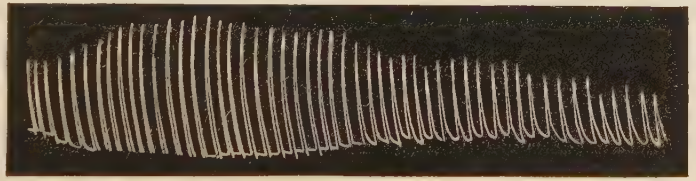
20 g Maus.
50 g Belastung.
Normalkurve.

Kurve 22.



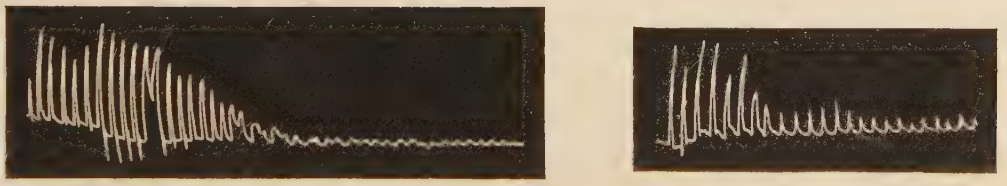
20 g Maus.
50 g Belastung.
Geringe Toxindosis
(0,1 cc).
5 Std. Latenzzeit.

Kurve 23.



20 g Maus.
50 g Belastung.
Starke Toxindosis (1 cc).
5 Std. Latenzzeit.

Kurve 24
und 25.



24 und 25.
20 g Mäuse.
50 g Belastung.
Starke Toxindosis
(1 cc).
25 Std. Latenzzeit.

Passive und aktive Immunisierung (Simultanimmunisierung).

Die Kurven 33, 36, 39, 43, 26, 27, 28 stammen von Mäusen, die ebenfalls eine starke Toxindosis erhalten hatten, nur waren sie vorher passiv immunisiert worden, und zwar durch Fütterung mit einer kleinen Menge antitoxinhaltigen Trockenserums am Tage vorher.

Der Unterschied gegenüber den Toxinkurven Nr. 32, 35, 38, 42, 30 springt sofort in die Augen.

Bei den Antitoxinmäusen ist nur eine schwache Andeutung von Ermüdung wahrzunehmen und die Hubhöhen bleiben bei einer gewissen Größe konstant, bei den Toxinmäusen dagegen sinken die Hubhöhen sehr bald und rasch bis zur Abszisse.

Bemerkenswert ist, daß die vorher mit Antitoxin gefütterten und später mit Toxin injizierten Mäuse Kurven mit ganz außerordentlichen Hubhöhen, besonders in den Endpartien der Kurve, geliefert haben.

Mittels rein passiver Immunisierung, d. h. also dadurch, daß man lediglich antitoxinhaltiges Serum füttert, bekommt man derartige hohe Kurvenwerte in den Endpartien der Kurven nicht.

Folglich ist durch die vorgängige Verabreichung von Antitoxin die Wirkung des starken Toxins aufgehoben worden. Aber nicht nur das, es hat sich auch eine aktive Immunisierung ausgebildet, jedenfalls infolge Übrigbleibens eines Restes des nicht vollkommen abgesättigten Toxins; denn die Tiere haben wie diejenigen von Nr. 11, 12, 22 reagiert, die ausschließlich durch eine geringe Toxingabe aktiv immun geworden sind.

Diese Anschauung ist durch zahlreiche Kurven bestätigt worden, die nach den vielfachsten Abstufungen der Dosen und nach den verschiedensten Latenzzeiten geschrieben worden sind.

Übrigens berechtigen nur relativ starke Unterschiede in den Kurvenwerten bei Versuchen mit Warmblütern zu bindenden Schlüssen. Darum will ich auf die Kurven 55 und 57 gegenüber den Normalkurven 54 und 56, 53 gegenüber 52, 62 gegenüber 61, 58 und 59 gegenüber 60, welche im Sinne einer passiven Immunisierung gedeutet werden könnten, nicht allzuviel Gewicht legen.

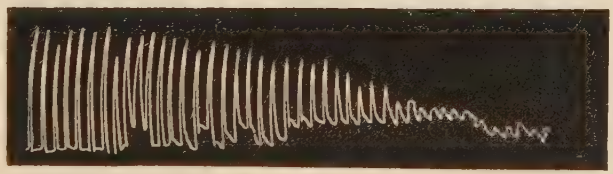
Es entspricht ja durchaus den bisherigen Erfahrungen der Immunitätslehre, daß die passive Immunisierung, d. h. die Einverleibung von Antitoxin, das bei anderen Tieren gewonnen worden ist, einen bei weitem flüchtigeren Antitoxinschutz verleiht als die aktive. Bei der aktiven Immunisierung werden die Zellen des Individuums selbst gezwungen, auf den Reiz mäßiger Toxindosen Antikörper zu produzieren.

Ich neige jetzt mehr und mehr der Ansicht zu, daß die Erfolge

Kurve 29.

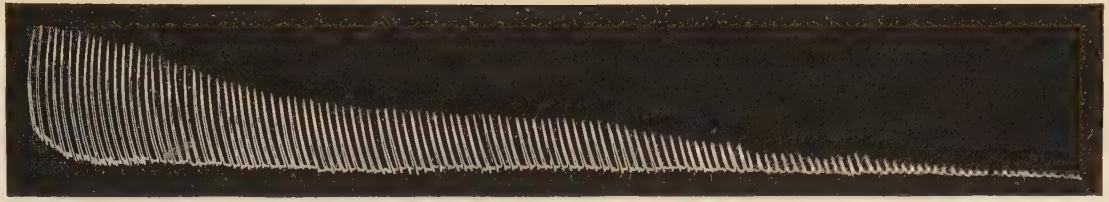
25 g Maus. 50 g Belastung.
4 Std. Latenzzeit nach
Toxininjektion.
(1 cc des Toxins wie bei
Kurve 26—28.)

Kurve 30.



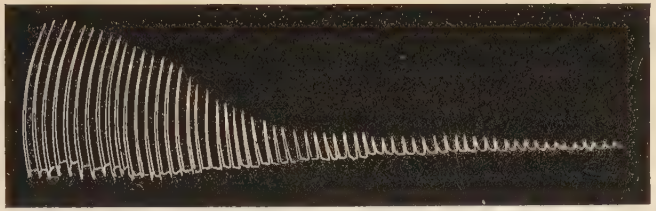
Dieselbe Maus. 50 g Belastung
25 Std. Latenzzeit nach
Toxininjektion.
(1 cc desselben Toxins.)

Kurve 31.



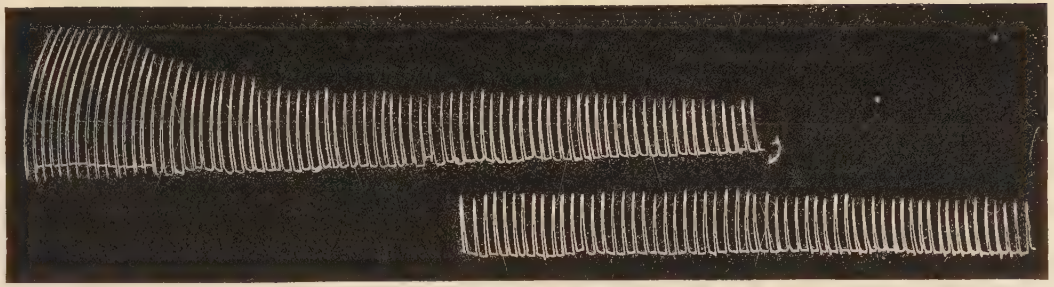
20 g Maus.
50 g Belastung.
Normalkurve.

Kurve 32.



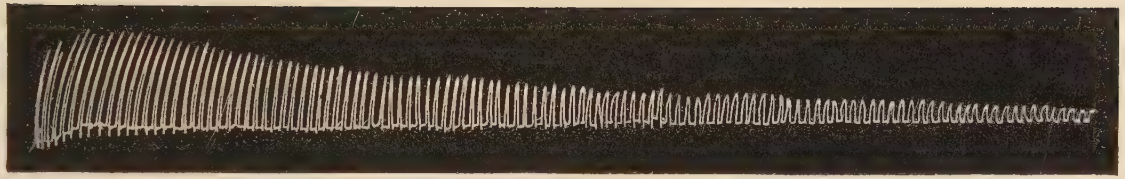
20 g. Maus. 50 g Belastung.
Toxinkurve.
25 Std. Latenzzeit nach
Injektion starken Toxins
(1 cc).

Kurve 33.



20 g Maus. 50 g Belastung.
Toxin-Antitoxinkurve.
Am Tage vor der Toxin-
injektion mit Antitoxin ge-
füttert. 25 Std. Latenzzeit
nach der Injektion obigen
Toxins (1 cc).

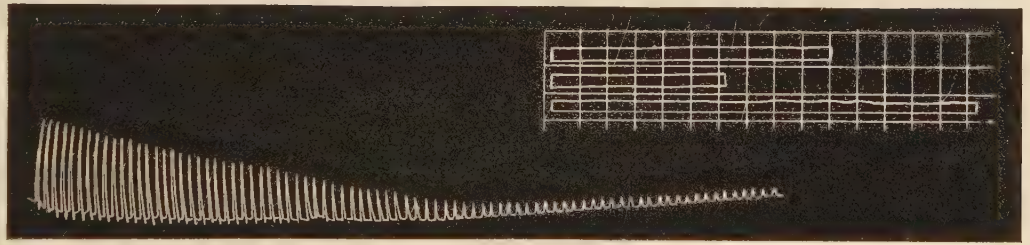
Kurve 34.



15 g Maus.
50 g Belastung.
Normalkurve.

Summen der Hubhöhen.

Kurve 35.



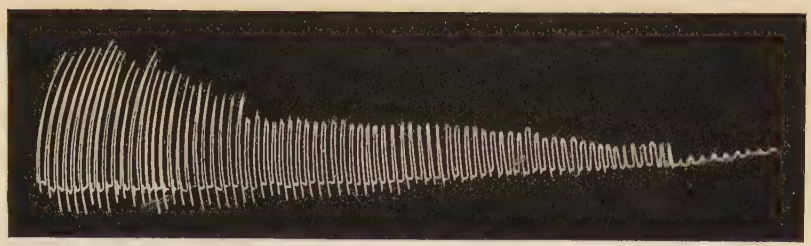
34
35
36

15 g Maus.
50 g Belastung.
Toxinkurve.
25 Std. Latenzzeit
nach Injektion starken
Toxins (1 cc).

Kurve 36.

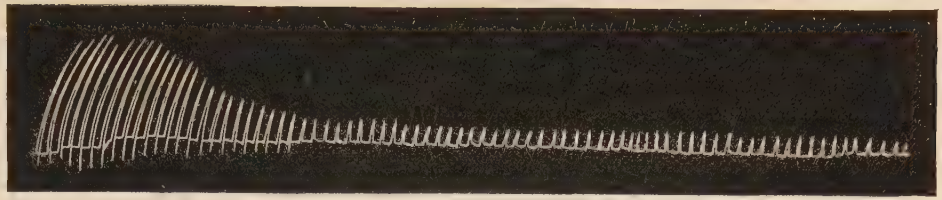
15 g Maus. 50 g Belastung. Toxin-Antitoxinkurve. Am Tage vor der Toxininjektion mit Antitoxin gefüttert.
25 Std. Latenzzeit nach Injektion obigen Toxins (1 cc).

Kurve 37.



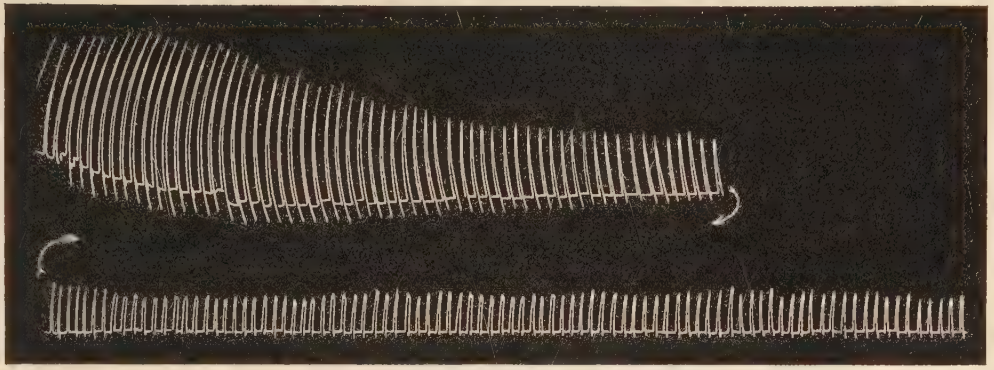
25 g Maus. 50 g Belastung.
Normalkurve.

Kurve 38.



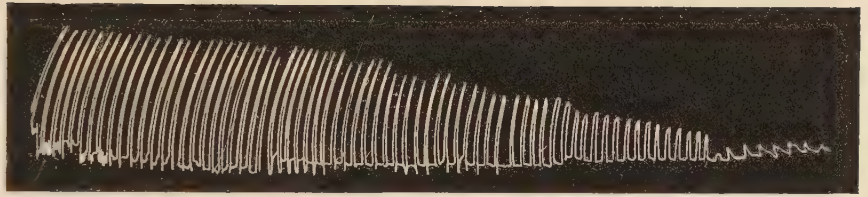
25 g Maus. 50 g Belastung.
Toxinkurve.
25 Std. Latenzzeit nach Injektion starken Toxins (1 cc).

Kurve 39.



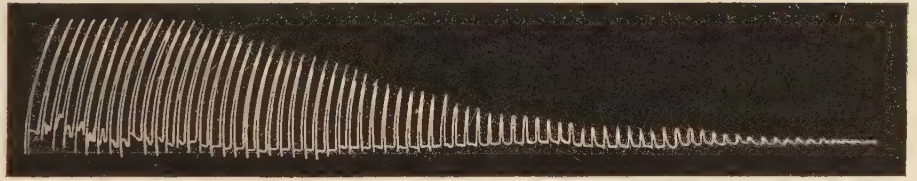
25 g Maus. 50 g Belastung.
Toxin-Antitoxinkurve.
Am Tage vor der Toxininjektion mit Antitoxin gefüttert. 25 Std. Latenzzeit nach Injektion des obigen starken Toxins (1 cc).

Kurve 40.



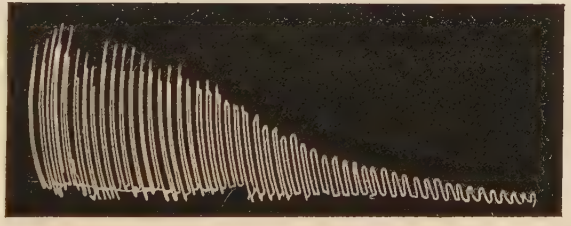
25 g Maus. 50 g Belastung.
Normalkurve.

Kurve 41.



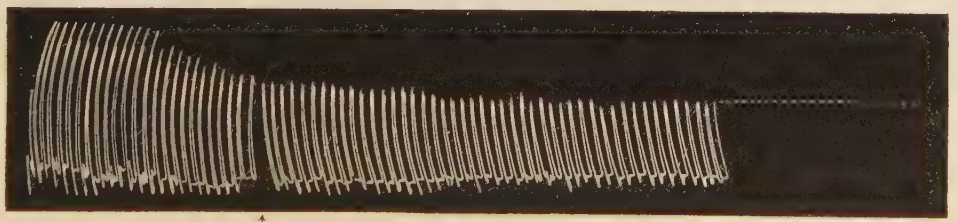
Dieselbe Maus. 50 g Belastung.
4 Std. Latenzzeit nach Injektion
starken Toxins (1 cc).
41 u. 42 Toxinkurven nach
verschiedener Latenzzeit.

Kurve 42.



Dieselbe Maus. 50 g Belastung.
25 Std. Latenzzeit nach
Injektion obigen Toxins
(1 cc).

Kurve 43.



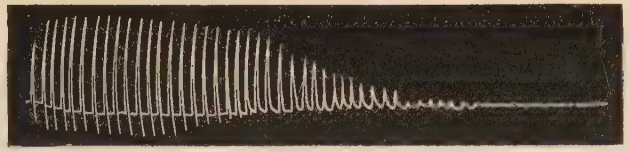
25 g Maus. 50 g Belastung.
Antitoxinkurve.
Am Tage vor der Toxin-
injektion mit Antitoxin ge-
füttert. 25 Std. Latenzzeit
nach Injektion obigen Toxins
(1 cc)

Trommelverschiebung.

Kurve 49.

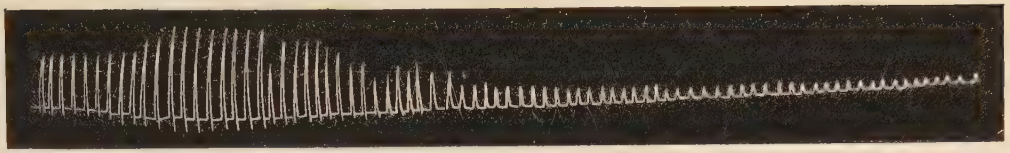
Toxinkurve.
20 g Maus.
50 g Belastung.
25 Std. Latenzzeit nach Injektion starken Toxins (1 cc).

Kurve 50.



20 g Maus.
50 g Belastung.
15 Std. Latenzzeit nach Injektion starken Toxins (1 cc).

Kurve 51.



20 g Maus.
50 g Belastung.
6 Std. Latenzzeit nach Injektion desselben Toxins (1 cc).

Kurve 52.

Kurve 53.

Ischiadicusreizung.
Rein passive Immunität.

52. Normalmaus 20 g.
53. Antitoxinmaus 20 g.
Beide in gleicher Weise vorher durch nach hinten Ziehen ermüdet.

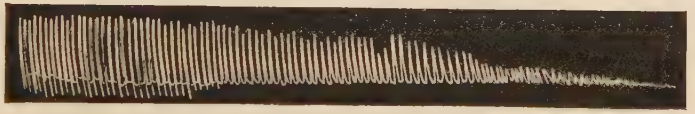
Kurve 54.

Normalmaus. 20 g.
Ischiadicusreizung.

Kurve 55.

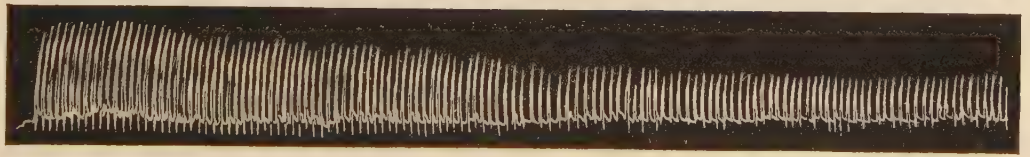
Maus 20 g.
Am Tage vorher mit
Antitoxin gefüttert.
Rein passive Immunität,
Ischiadicusreizung.

Kurve 56.



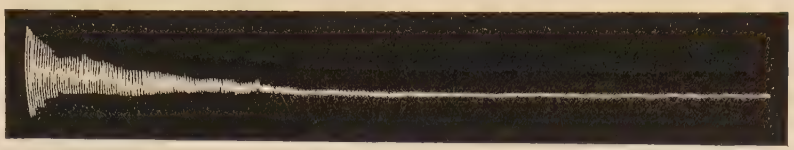
Normalmaus. 20 g.
Ischiadicusreizung.

Kurve 57.



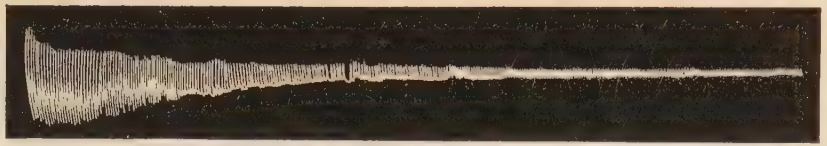
Maus 20 g.
Am Tage vorher mit
Antitoxin gefüttert.
Rein passive Immunisierung,
Ischiadicusreizung.

Kurve 58.



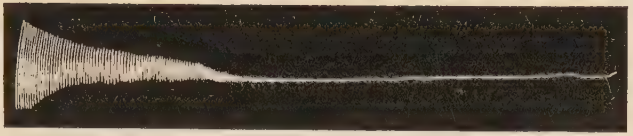
Am Tage vorher mit Fleisch-extrakt gefüttert. Ischiadicusreizung.

Kurve 59.



Gleich große Maus. Am Tage vorher mit Anti-toxin gefüttert. Ischiadicusreizung.

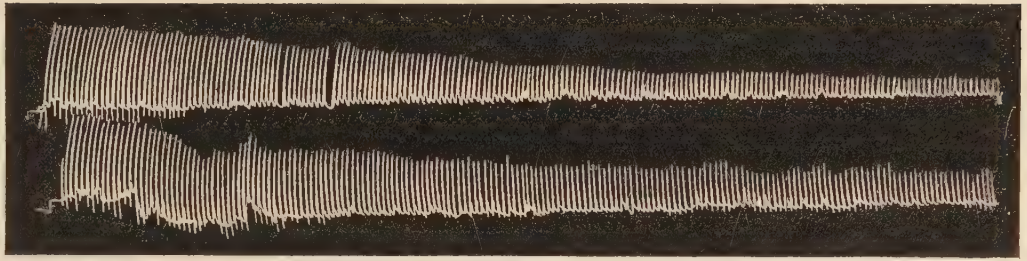
Kurve 60.



Normalmaus. Gleiche Bedingungen wie 58 und 59.

Kurve 61.

Kurve 62.



Normalmaus 25 g.

Antitoxinmaus 25 g. Am Tage vorher mit Antitoxin gefüttert. Gleiche Bedingungen wie 61.

Passive Immunisierung am Menschen.

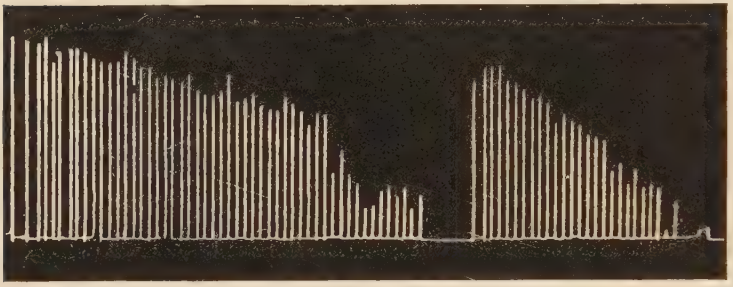
Es folgen zunächst die sehr zuverlässigen Ergographenkurven, die von einem Arzte, Dr. O., stammen. Er schrieb die Kurven 81a und 81b ohne weitere Behandlung, nach mehrtägiger Vorübung am Ergographen, im März 1905.

Im August desselben Jahres wurde er einige Zeit lang mit dem Serum eines mit Ermüdungstoxin behandelten Pferdes passiv immunisiert. Darauf schrieb er ohne vorhergegangenen Training die Kurven 82 und 83. Die Unterschiede gegen 81a und 81b sind deutlich.

Rein passive Immunisierung am Menschen.

Kurve 81.

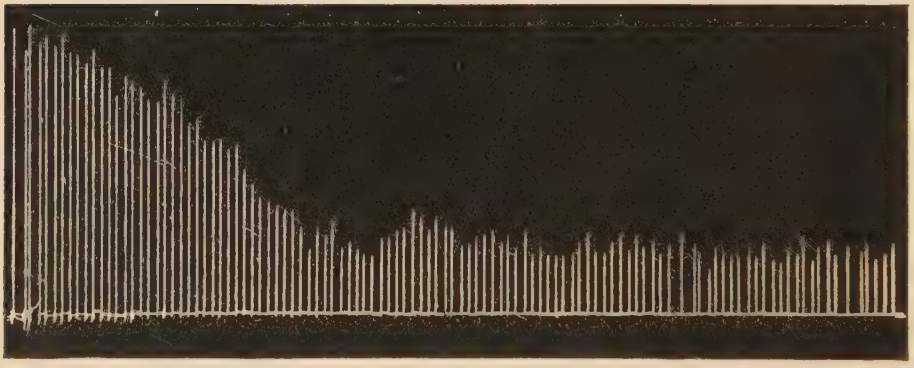
a



b

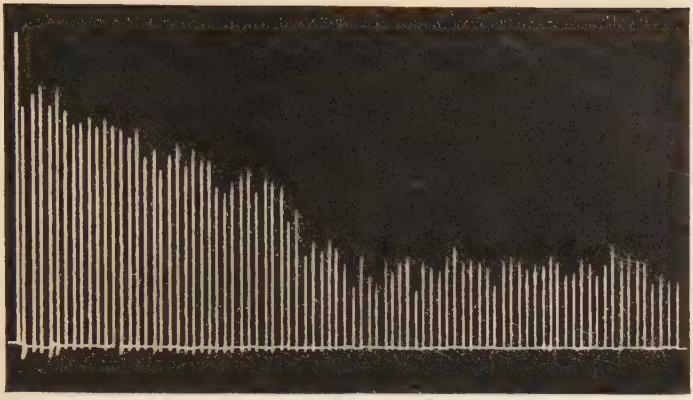
Normalkurven nach längerer Trainierung ohne Antitoxin. 4 kg Bel. 2″.

Kurve 82.



Dasselbe Individuum untrainiert. Anfang der passiven Immunisierung. 4 kg Bel. 2″.

Kurve 83.



Während der passiven Immunisierung. 4 kg Bel. 2″.

Aktive Immunisierung am Menschen.

Die Kurve 63 [1]) ist am Ende eines Trainings von 2 Wochen am Ergographen geschrieben. Wir bedienten uns einer Anordnung nach Dubois. Der kleine Finger war der schreibende, der Arm wurde vollkommen fest fixiert.

Eine intelligente, regelmäßig lebende Versuchsperson war angewiesen worden, stets gleiche Willensimpulse im Verlauf einer Kurve zu dem schreibenden Finger zu senden. Es gelang ihr bald, zu der gleichen Tageszeit stets Kurven vom Typus Nr. 63, die nur wenig voneinander abwichen, zu schreiben, obgleich sie während des Kurvenschreibens nicht im stande war, die an der Kymographiontrommel schreibende Spitze, wie überhaupt die geschriebene Kurve zu sehen.

Kurve 64 ist 5, 65 10, 66 15 Minuten nach Einverleibung reduzierten Eiweißes per os geschrieben. Und zwar war ½ l Milch eingegeben worden, die ich 1 Stunde lang elektrolysiert hatte.

5 Minuten später ließ ich sie also die Kurve 64, 10 Minuten später die Kurve 65 und 15 Minuten später Kurve 66 schreiben und hatte ihr den Glauben beigebracht, sie habe ein Kräftigungsmittel bekommen. Trotzdem schrieb sie nach einer Latenzzeit von 10 und 15 Minuten in den Kurven 65 und 66 Werte, die bedeutend niedriger als die der Normalkurve 63 waren.

Die vom nächsten Tage ab erhaltenen Kurven sind in Nr. 73—80 wiedergegeben. Erst nach einer Latenzzeit von 33 Stunden ist die aktive Immunisierung bei diesem Individuum in auffallender Weise zu Tage getreten.

---

[1]) S. folgende Seite.

Aktive Immunisierung am Menschen.

Ergographenkurven 3 kg Belastung (l. kleiner Finger) 2″.

Alle folgenden Kurven sind von rechts nach links zu lesen.

Kurve 63.

Nach Training. 10 h. a. m. Nach der Kurve 1/2 1 mittels Reduktion hergestellte Toxinmilch per os.

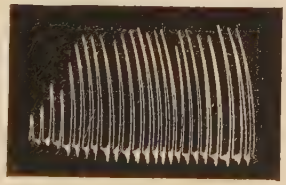
Kurve 64.

5′ nach der Toxineinnahme.

Kurve 65.

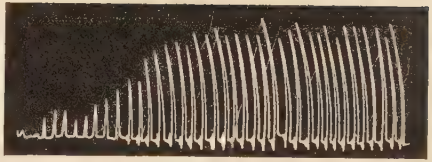
10′ nach der Toxineinnahme.

Kurve 66.



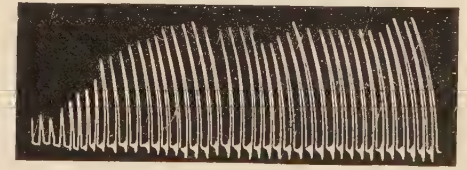
15′ nach der Toxineinnahme.

Kurve 67.



30′ nach der Toxineinnahme.

Kurve 68.

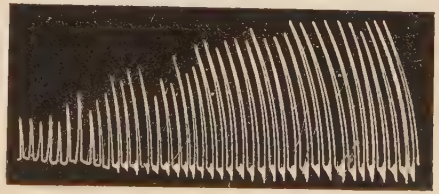


1 Std. nach der Toxineinnahme.

Kurve 69.

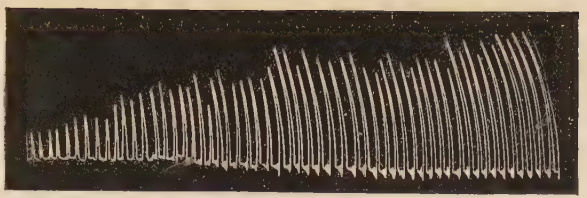
3 Std. nach der Toxineinnahme.

Kurve 70.



5 Std. nach der Toxineinnahme.

Kurve 71.



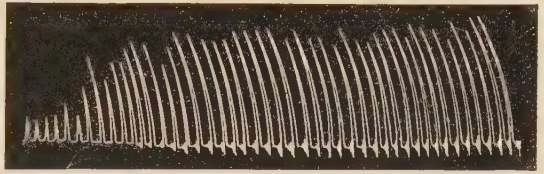
7 Std. nach der Toxineinnahme.

Kurve 72.

9 Std. nach der Toxineinnahme.

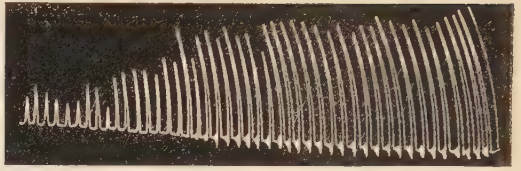
Ergographenkurven 3 kg Belastung (am folgenden Tage von demselben Individuum geschrieben).

Kurve 73.



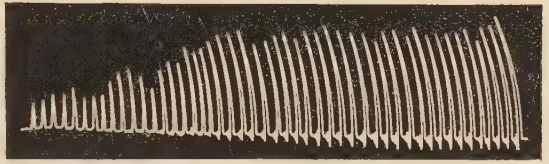
10 h. a. m.

Kurve 75.



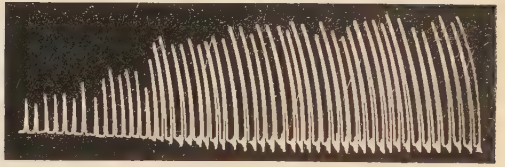
10 h. 10′.

Kurve 74.



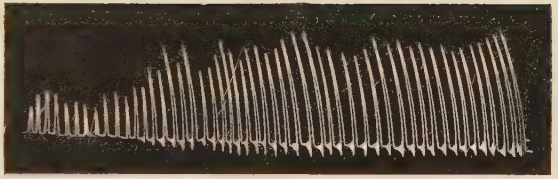
10 h. 5′.

Kurve 76.



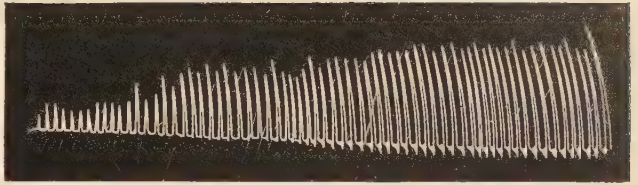
10 h. 15′.

Kurve 77.



10 h. 30′.

Kurve 78.



1 h.

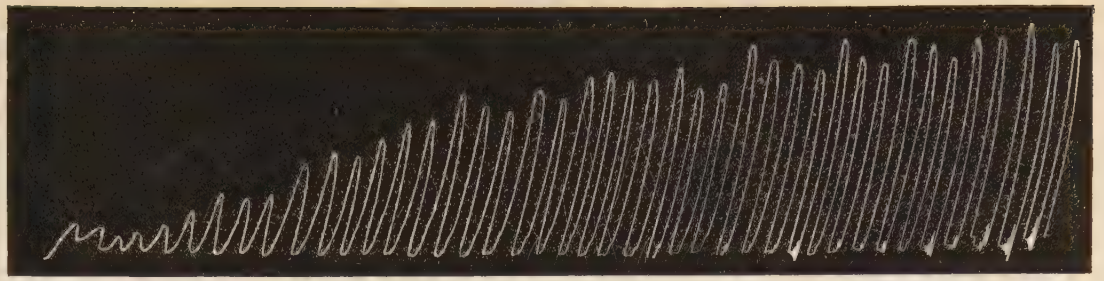
Kurve 79.

5 h. p. m

Kurve 80.

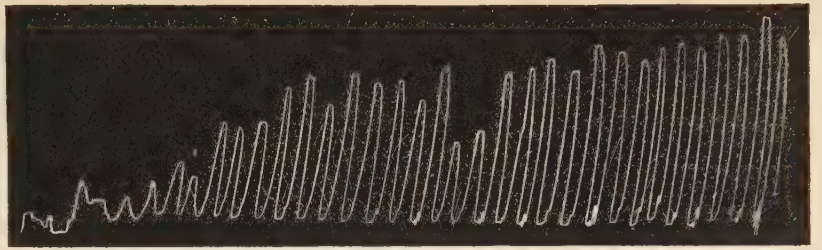
7 h. p. m. Die aktive Immunität tritt nach einer Latenzzeit von 33 Stunden nach Toxineinverleibung deutlich in Erscheinung.

Kurve 84.



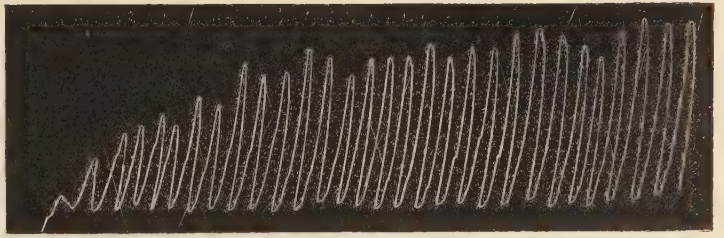
Normalkurve nach Trainierung.

Kurve 85.



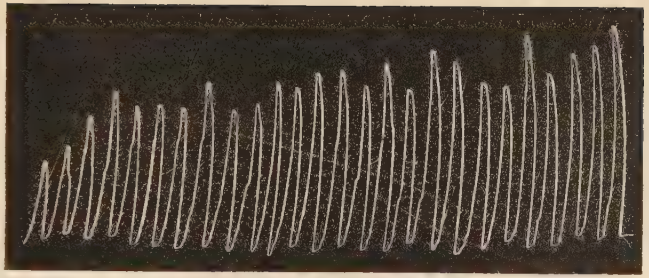
10 Min. nach Toxineinnahme. (R.-Toxin, durch Elektrolyse an der — Elektrode hergestellt, $^1/_2$ l Milch.)

Kurve 86.



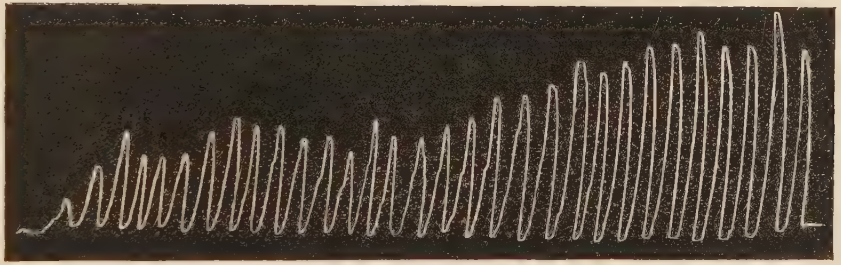
15 Min. nach der Toxineinnahme.

Kurve 87.



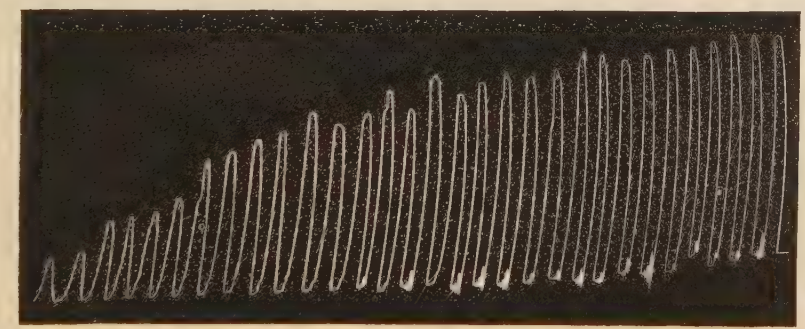
30 Min. nach der Toxineinnahme.

Kurve 88.



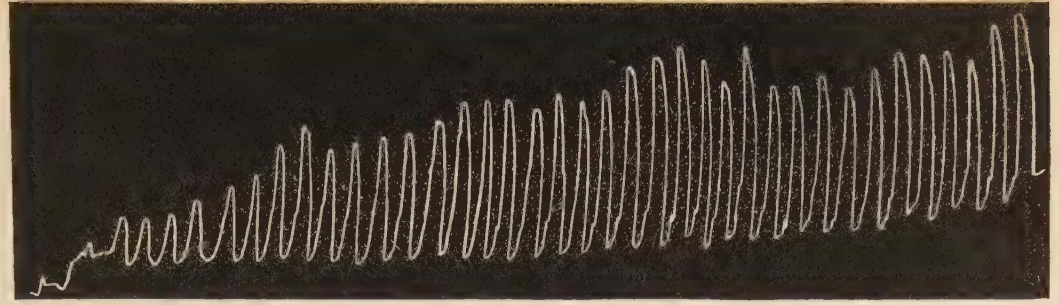
45 Min. nach der Toxineinnahme.

Kurve 89.



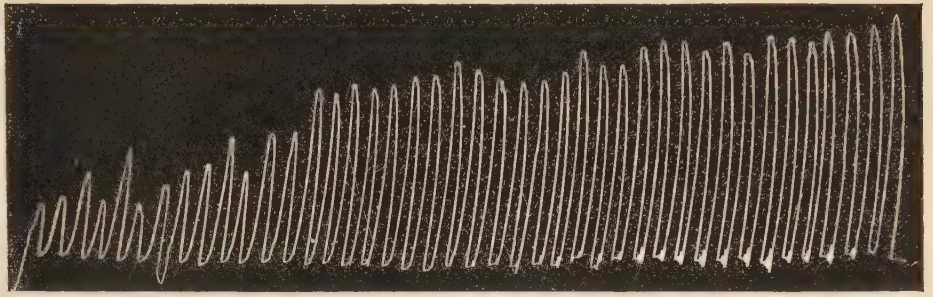
60 Min. nach der Toxineinnahme.

Kurve 90.



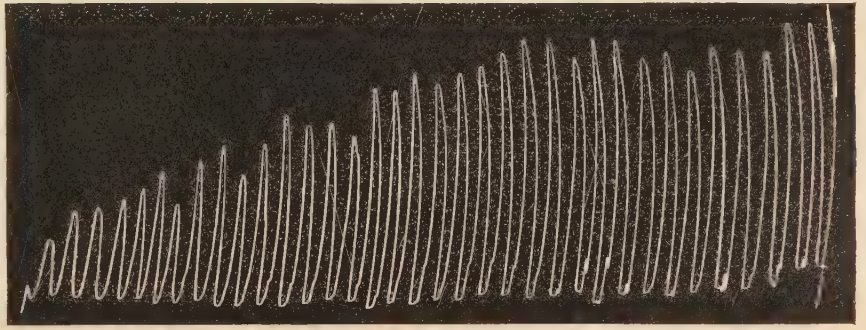
24 Stunden nach der ersten Toxineinnahme.

Kurve 91.



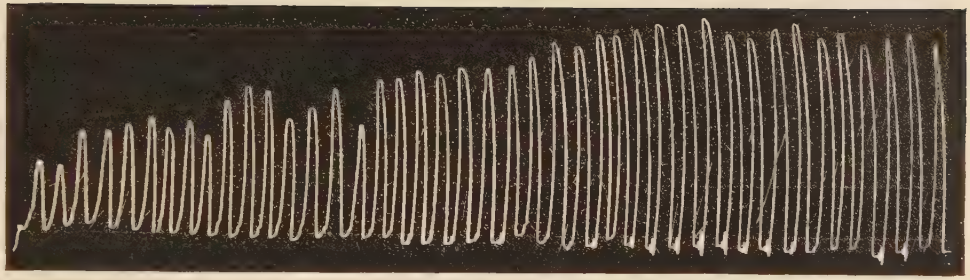
10 Min. nach erneuter Gabe derselb. Dosis des gleichen Toxins wie am Tage vorher (das Individuum ist bereits etwas aktiv immun).

Kurve 92.



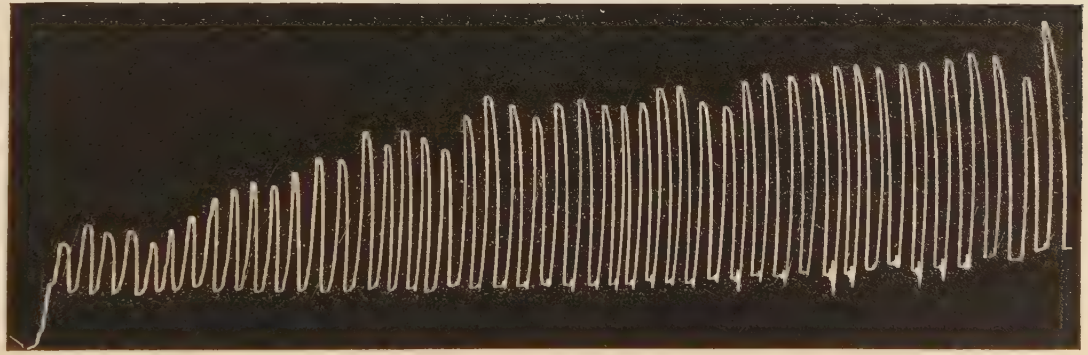
15 Min. nach der zweiten Toxingabe.

Kurve 93.



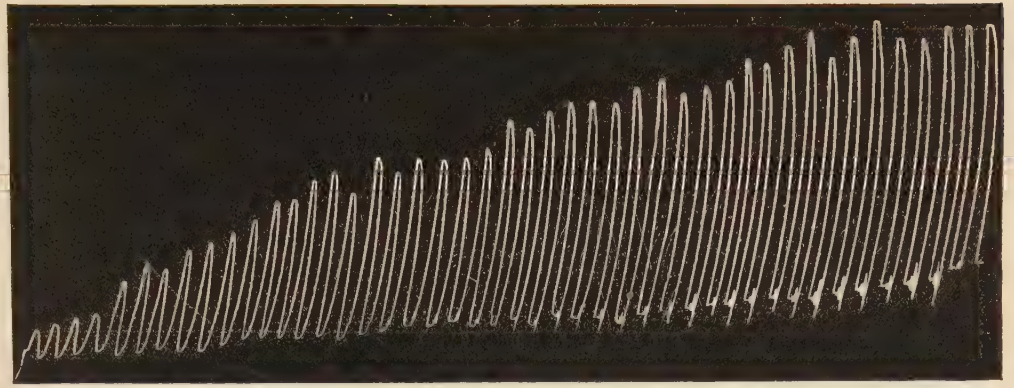
30 Min. nach der zweiten Toxingabe.

Kurve 94.



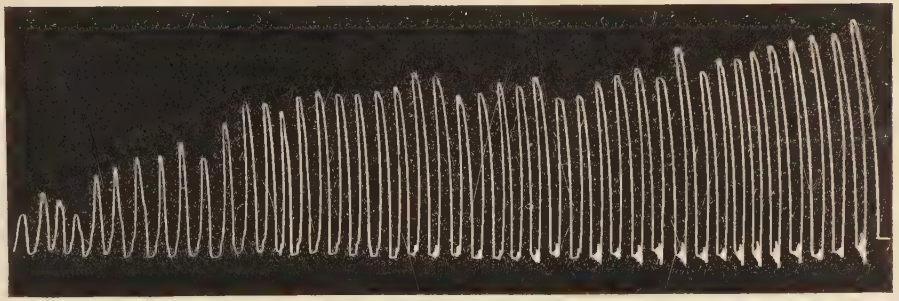
12 Std. nach der zweiten Toxingabe.

Kurve 95.



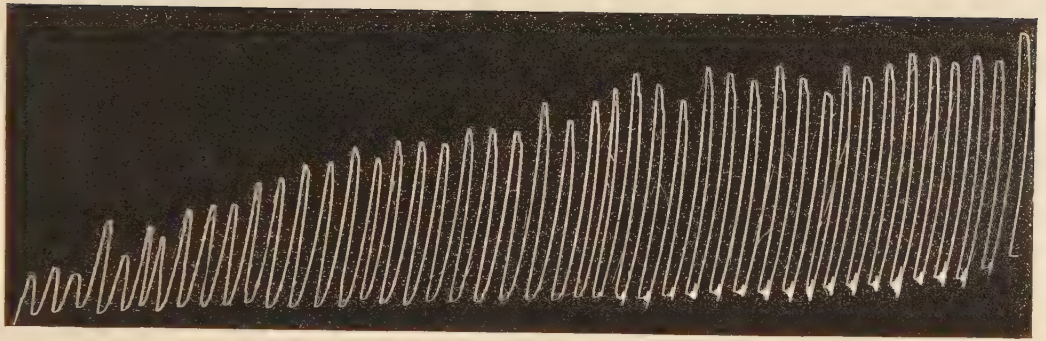
24 Std. nach der zweiten Toxingabe
Maximale Leistung in dieser II. Versuchsreihe.

Kurve 96.



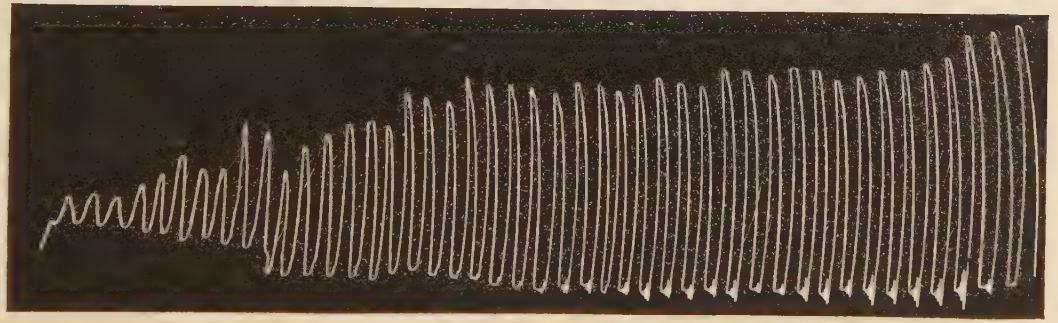
10 Min. nach erneuter Einnahme starken O-Toxins ($^1/_2$ l Milch von der +Elektrode hergestellt)

Kurve 97.



12 Std. nach der dritten Toxingabe.

Kurve 98.



24 Std. nach der dritten Toxingabe.
Abendkurve. Die dritte Toxingabe noch nicht ganz ausgeglichen.
Versuch unterbrochen.

Am darauffolgenden Tage ließen die Ergographenkurven keine Toxinwirkung mehr erkennen. Das Individuum war jetzt aktiv immun geworden.

Eine zweite, dritte und vierte Versuchsperson reagierte in ganz ähnlicher Weise, nur die Latenzzeiten, das Auftreten und Schwinden der aktiven Immunität nach der Toxineinverleibung waren Schwankungen unterworfen.

Das bei Eiweißreduktion und -oxydation gebildete Toxin, obschon es als hochmolekularer Körper undialysierbar ist, wird also von der lebenden Zelle bis zu einem gewissen Grade resorbiert. Dies geschieht ja auch mit anderen undialysierbaren Substanzen.

Studien über aktive und passive Immunisierung mit Ermüdungstoxin und Antitoxin am kranken Menschen fallen mehr in das Gebiet des Internisten und Neurologen. Sie sind bereits von verschiedenen Seiten in Angriff genommen worden, und ich darf hoffen, daß es auch diesen Arbeiten nicht an positiven, für die Therapie günstigen Ergebnissen fehlen wird, die sich an die bisher gewonnenen physiologischen Ergebnisse gleichwertig anreihen.

Steht doch nunmehr fest

1. daß bei der Ermüdung des Warmblüters außer den schon lange bekannten chemisch definierbaren Stoffwechselprodukten Antigene auftreten, d. h. also toxische, spezifische Antikörper bildende Substanzen;
2. daß ähnliche, vielleicht sogar die gleichen toxischen Substanzen auch außerhalb des Organismus, bei der Spaltung von Eiweißmolekülen mittels verschiedener physikalischer und chemischer Einflüsse entstehen.

Mein hochverehrter Chef, Herr Professor Heim, hat mir fortdauernd das größte Interesse entgegengebracht und mich aus dem reichen Schatze seiner Erfahrung allenthalben mit Ratschlägen unterstützt. Es sei mir deshalb zum Schluß gestattet, ihm meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. Ascoli, Zur experimentellen Pathologie der Eklampsie. Zentralbl. f. Gynäkol. 1902, Nr. 49.
2. Aschoff, Ehrlichs Seitenkettentheorie und ihre Anwendung auf die Immunisierungsprozesse. Jena 1902. Vollständige Literaturangabe bis zu diesem Jahre.
3. Baumgarten, Die Hämolysine vom Gesichtspunkte osmot. Störungen betrachtet. Festschr. f. Jaffé 1901.
4. Blackley, Experimental researches on the causes and nature of catarrhus aestivus. London 1873. Ref. Americ. Journ. of med. scienc. 67, S. 181.
5. Derselbe, Virchows Archiv Bd. 70, S. 429.
6. Derselbe, Medical Times and Gazette 1877, II, S. 243.
7. Derselbe, Lancet 1881, II, S. 371.
8. Derselbe, British Med. Journal 1898, I, S. 40.
9. Behm, Über Hyperemesis gravidar. Arch. f. Gynäkol. Bd. 69, H. 2.
10. Bostock, J., Medico-chirurg. Transactions Vol. X, I, S. 161.
11. Derselbe, Medico-chirurg. Transactions 1828, S. 437.
12. Blumreich und Zuntz, Experimentelle und kritische Beiträge zur Pathogenese der Eklampsie. Arch. f. Gynäkol. Bd. 65, H. 3.
13. Bumm, Über die Entwicklung der menschlichen Plazenta. Sitzungsbericht der phys.-med. Gesellsch. zu Würzburg 1901.
14. Danilewsky, Ref. Jahresber. f. Tierchemie 1903, S. 556.
15. Dieudonné, Immunität, Schutzimpfung und Serumtherapie. Leipzig 1905.
16. v. Dungern, Die Antikörper. Jena 1903.
17. Ehrlich, Gesammelte Arbeiten zur Immunitätsforschung. Berlin 1904.
18. Flügge, Die Mikroorganismen. Leipzig 1896.
19. Halban und Landsteiner, Über Unterschiede des mütterlichen und fötalen Blutserums. Münch. med. Wochenschr. 1902, Nr. 12.
20. Heim, Archiv für Hygiene Bd. 40.
21. Derselbe, Münch. med. Wochenschr. 1904, S. 426.
22. Derselbe, Lehrbuch der Bakteriologie. Ferdinand Enke, Stuttgart 1898.
23. Hoffmeister, Verhandlungen deutscher Naturforscher u. Ärzte. Karlsbad 1902.
24. Korschun, Zeitschr. f. phys. Chemie 36, 141 (1903).
25. Leffmann, Zeitschr. für Untersuchung von Nahrungs- und Genußmitteln 1898, S. 650.
26. Levaditi, Antitoxische Prozesse. Jena 1905.
27. Liepmann, Über ein für menschliche Plazenta spezif. Serum. Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 5 und 22.
28. Derselbe, Zur Ätiologie der Eklampsie. Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 15.
29. Derselbe, Über ein für menschliche Plazenta spezif. Serum. 2. Mitteil. Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 22.
30. Lust, Beiträge zur chem. Physiologie und Pathologie 5, 132.

31. Marx, Diagnostik, Serumtherapie und Prophylaxe. Berlin 1902.
32. Metschnikoff, Recherches sur l'influence de l'organisme sur les toxines. S. A.
33. Derselbe, Immunité dans les maladies infectieuses. Paris 1891.
34. Moll, Beiträge zur chem. Physiologie und Pathologie 2, 350.
35. Mohr, Das Heufieber. 6. und 7. Bericht des Heufieberbundes und Beitrag zur Ätiologie und Therapie des Heufiebers. Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 43 und 44.
36. Mohr und Hamburger, Über eine neue Reaktion der Menschenmilch. Wien. klin. Wochenschr. 1902.
37. Neisser und Wechsberg, Über Staphylotoxin. Zeitschr. für Hygiene Bd. 36, 1901.
38. Oppenheimer, Die Fermente. Berlin 1905.
39. Opitz, Zur Biochemie der Schwangerschaft. Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 34.
40. Pasteur, Comptes rend. de l'Acad. 1886.
41. Paal und Amberger, Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft Jahrgang XXXVIII, H. 6.
42. Polano, Experimentelle Beiträge zur Biologie der Schwangerschaft. Habil.-Schrift. Würzburg 1904.
43. Pollak, Beiträge zur chem. Physiologie und Pathologie 5, 95.
44. Richet, Dictionnaire de Physiologie. Fatigue.
45. Rubner, Lehrbuch der Hygiene. Franz Deuticke, Leipzig 1903.
46. Sachs, Über Differenzen der Blutbeschaffenheit in verschiedenen Lebensaltern. Zentralbl. f. Bakteriol. Bd. 34, Nr. 7.
47. Schmorl, Pathologisch-anatomische Untersuchungen über Puerperaleklampsie. F. C. W. Vogel, Leipzig 1893.
48. Derselbe, Zentralbl. f. Gynäkol. 1902, Nr. 40.
49. Derselbe, Verhandl. der deutschen Gesellsch. f. Gynäkol. 1901.
50. Derselbe, Zur Lehre der Eklampsie. Arch. f. Gynäkol. Bd. 65, H. 2.
51. Schwarz, Zur Kenntnis der Antipepsine. Beiträge zur chem. Physiologie und Pathologie VII, 524.
52. Storch, Zeitschr. für Untersuchung von Nahrungs- und Genußmitteln 1899, S. 239.
53. Veit, Verschleppung von Zotten und ihre Folgen. Zentralbl. f. Gynäkol. 1904, Nr. 1.
54. Derselbe, Zur Physiologie zur Ernährung des Fötus. Deutsche med. Wochenschrift 1903, Nr. 9.
55. Derselbe und R. Scholten, Syncytiolyse und Hämolyse. Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. Bd. 49, H. 9.
56. Dieselben, Weitere Untersuchungen über Zottendeportation. Zentralbl. f. Gynäkol. 1902, Nr. 7.
57. Weichardt, Recherches sur l'Antispermatoxine. Annales de l'Institut Pasteur 1901.
58. Derselbe, Experimentelle Studien über die Eklampsie. Deutsche med. Wochenschrift 1902, Nr. 36.
59. Derselbe, Zur Ätiologie der Eklampsie. Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. Bd. 50, H. 1. — Über die Syncytiotoxine. Hygien. Rundschau 1903, Nr. 10.
60. Derselbe, Zur modernen Lehre der Eklampsie. Münch. med. Wochenschr. 1904, Nr. 6.

61. Derselbe, Zur Kenntnis des Heufieber- und Eklampsieserums. Berl. klin.-therap. Wochenschr. 1903, Nr. 1 und 1904, Nr. 14 und 20.
62. Derselbe, Über spezifisches Heufieberserum. Sitzungsber. der physikal.-med. Sozietät in Erlangen 1905, Bd. 37.
63. Derselbe, Moderne Immunitätslehre. Münch. med. Wochenschr. 1901, Nr. 52.
64. Derselbe, Über Zellgifte und Schutzeinrichtungen im menschlichen Organismus. Münch. med. Wochenschr. 1902, Nr. 44.
65. Derselbe, Über Ermüdungstoxine und deren Antitoxine. 1. Mitteil. Münch. med. Wochenschr. 1904, Nr. 1; 2. Mitteil. 1904, Nr. 48; 3. Mitteil. 1905, Nr. 26.
66. Derselbe, Neues aus der Serologie. Berl. klin.-therap. Wochenschr. 1904, Nr. 31.
67. Derselbe, Über Ermüdungstoxin und Antitoxin. Demonstr. Vortrag am 5. Dezember 1904 in der physiol. Gesellsch. zu Berlin.
68. Weinland, Zeitschr. f. Biol. 1902, 441, 44, 45.
69. Wolff, Alfred, Über das Heufieber. Beitr. zur klin. Med. 1904. Senator Festschr. und weitere bald zu veröffentlichende Berichte.
70. Derselbe, Neue Untersuchungen über einige Immunitätsfragen. Berl. klin. Wochenschr. 1904, Nr. 42—44.
71. Derselbe, Zentralbl. f. Bakteriol. 1904/1905.
72. Wormser, Zur modernen Lehre von der Eklampsie. Münch. med. Wochenschrift 1904, Nr. 1.
73. Zuntz und Schumburg, Physiologie des Marsches. Bibliothek v. Coler.
74. Zuntz, Loewi, Müller, Caspari, Höhenklima und Bergwanderungen. 1906. Bong & Co.